



Caractérisation et rôles du récepteur apparenté aux récepteurs des oestrogènes- γ (ERR γ) dans le placenta humain normal et pathologique

Dorothée Poidatz

► To cite this version:

Dorothée Poidatz. Caractérisation et rôles du récepteur apparenté aux récepteurs des oestrogènes- γ (ERR γ) dans le placenta humain normal et pathologique. Biologie cellulaire. Université de Versailles-Saint Quentin en Yvelines, 2015. Français. NNT : 2015VERS037V . tel-01325284

HAL Id: tel-01325284

<https://theses.hal.science/tel-01325284>

Submitted on 2 Jun 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Versailles-Saint Quentin en Yvelines

Discipline : Biologie cellulaire

Ecole doctorale : GAO, des Génomes aux Organismes

Présentée et soutenue publiquement par

Dorothée POIDATZ

Le 9 mars 2015

Caractérisation et rôles du récepteur apparenté aux récepteurs des œstrogènes- γ (ERR γ) dans le placenta humain normal et pathologique

Directeur de thèse : Pr Marie-Noëlle DIEUDONNE

Laboratoire d'accueil : UPCG EA 2493, UVSQ

JURY

Pr François VIALARD	Président
Dr Nadia ALFAIDY	Rapporteur
Dr Thierry FOURNIER	Rapporteur
Dr Sébastien GAUMER	Examineur
Dr Anne TARRADE	Examineur

Remerciements

Je tiens à remercier en premier lieu le professeur Philippe de Mazancourt pour m'avoir accueillie dans son laboratoire et permis d'effectuer ces travaux de recherche tout au long de mon stage de M2 et de ma thèse.

Je remercie de tout cœur Marie-Noëlle Dieudonné pour m'avoir encadrée durant ces années formatrices de M2 et de thèse. Merci pour tous les conseils, les nombreuses corrections et les relectures des divers mémoires, articles et bien sûr, de la thèse. Merci pour tout le savoir-faire transmis, les règles de rigueur et d'organisation et tout le temps donné au cours de mon apprentissage.

J'adresse mes remerciements aux différents membres du jury, présidé par le professeur François Vialard. Je remercie les docteurs Thierry Fournier et Nadia Alfaïdy pour avoir accepté le rôle de rapporteur de cette thèse. Je remercie également les docteurs Sébastien Gaumer et Anne Tarrade qui ont accepté d'être examinateurs de cette thèse.

Je tiens à remercier chaudement tous les membres de l'UPCG EA-2493 qui m'ont accueillie, soutenue et encouragée tout au long de mon séjour. Merci tout particulier à Esther Dos Santos, pour toutes les corrections, les encouragements et les sourires tout du long. Merci à Maryse de Hauteur pour son soutien constant, merci à Florence Quelin, Valérie Serazin, François Vialard et M'Barka Giudicelli pour leur bonne humeur et leur soutien, et un grand merci à Corinne Morvan pour son soutien technique et sa gentillesse constante.

Je remercie également Aurore Rincheval pour ses conseils formateurs en enseignement, et Sébastien Gaumer pour ses précieux conseils en statistiques, ainsi que Benoit Maury et

Vincent Rincheval pour leurs conseils en immunofluorescence et microscopie confocale et leur soutien constant.

Je n'oublie pas les nombreux stagiaires et thésards, sans qui la vie de laboratoire serait bien différente et dont les conseils en matière de manipulations expérimentales, d'administration, d'impôts, de musique, de choix de carrière, de films et de sport ont toujours été enrichissants. Merci donc à Delphine Benaitreau, Linda Bellazi, Guillaume Garnier, Julie et Fabien Duval pour leur présence et leur enthousiasme. Un merci tout particulier à Hadia Moindjie, pour sa bonne humeur, son soutien constant, ses potins toujours à jour, sa gentillesse, ses bonbons et son aide précieuse dans l'établissement des tableaux cliniques et son aide technique pour mon troisième article.

Je remercie aussi Julie Fort, Héloïse Gronier et toute l'équipe de la maternité de Poissy. Je remercie également les services du Centre Hospitalier de Poissy St Germain (Orthogénie, Bloc opératoire, Laboratoire Central) sans qui l'obtention et l'analyse des échantillons biologiques n'auraient pas été possible.

Enfin, un immense merci à toutes les personnes qui m'ont soutenue tout au long de cette aventure, particulièrement mes parents et mes frères et sœurs, mais aussi ma grand-mère, qui m'a toujours surprise par la confiance qu'elle avait en moi.

Table des Matières

Remerciements	1
Table des Matières	3
Figures et Tableaux.....	7
Abréviations	9
Introduction.....	13
I- Le placenta humain	14
A- Développement du placenta humain	14
1) Fenêtre implantatoire	14
2) Implantation.....	16
3) Mise en place des villosités choriales	18
4) Les voies de différenciation du trophoblaste	19
5) Mise en place de la circulation maternelle placentaire.....	21
6) Le placenta définitif	22
B- Les fonctions du placenta	24
1) La fonction endocrine	24
a. Hormones stéroïdes	24
b. Hormones polypeptidiques	25
2) La fonction d'échanges	29
a. Transport du glucose.....	30
b. Transport des lipides	30
c. Transport des acides aminés.....	31
d. Transfert des immunoglobulines G	31
3) La barrière protectrice	32
4) La barrière immunologique	32
C- Contrôle du développement placentaire	34
1) La différenciation du trophoblaste villositaire.....	34

a.	La différenciation morphologique.....	35
b.	La différenciation biochimique	37
c.	Trophoblaste vilieux et apoptose différenciante.....	38
d.	Facteurs régulant la fusion trophoblastique.....	40
2)	La différenciation du cytotrophoblaste extra-vilieux	46
a.	Les acteurs de l'invasion trophoblastiques	47
b.	Facteurs régulant l'invasion trophoblastique	51
3)	Rôle de l'oxygène dans la différenciation du trophoblaste.....	59
II-	Les pathologies de la grossesse	60
A-	La prééclampsie (PE).....	60
1)	Définition de la PE.....	60
2)	Pathogenèse de la PE.....	61
a.	Facteurs de risques maternels	61
b.	Facteurs de risques du fœtus	62
c.	Physiopathologie de la PE	63
B-	Le retard de croissance intra-utérin (RCIU).....	67
1)	Définition du RCIU.....	67
2)	Pathogenèse du RCIU.....	68
a.	Causes maternelles	69
b.	Causes fœtales	69
c.	Causes placentaires	70
C-	Mitochondries et pathologies de la grossesse	71
1)	Généralités.....	71
a.	Définition des mitochondries.....	71
b.	La biogenèse mitochondriale	72
2)	Rôle des mitochondries	75
a.	Rôle énergétique	75
b.	Autres fonctions des mitochondries	76
c.	Rôle dans la différenciation cellulaire	77
3)	Dysfonctions mitochondriales associées à des pathologies de la grossesse.....	78
4)	Mutations mitochondriales associées à des pathologies de la grossesse.....	79

III- Les récepteurs apparentés aux récepteurs des oestrogènes (ERRs)80

A- Généralités sur les ERRs	80
1) Structure des ERRs	80
2) Mécanismes d'action des ERRs.....	82
3) Les ligands des ERRs.....	84
4) Rôles des ERRs.....	86
a. Rôle ancestral des ERRs : apport de la drosophile	86
b. Fonction d'ERR α et d'ERR γ : apport des souris KO et des études transcriptomiques chez l'Homme	86
c. Fonction d'ERR β : apport de la souris KO et des études transcriptomiques chez l'Homme	88
B- ERR γ	90
1) Structure d'ERR γ	90
a. Structure du gène <i>ESRRG</i>	90
b. Structure de la protéine ERR γ	91
2) Rôles d'ERR γ	93
a. Rôle dans l'homéostasie énergétique.....	93
b. Rôle dans l'homéostasie ionique	96
c. Rôle d'ERR γ dans le cancer.....	96
d. Rôle d'ERR γ dans la différenciation cellulaire	97
e. Rôle d'ERR γ dans la stéroïdogénèse	99
3) Régulation d'ERR γ	100
a. Régulation spatio-temporelle	100
b. Régulation circadienne.....	100
c. Régulation par le statut énergétique de la cellule	101
d. Régulation par l'oxygène.....	103
e. Régulation par le stress cellulaire	104
f. Régulation par l'angiogénine	105
g. Régulation par les microARNs	105
h. Autres régulations	105
C- ERR γ et le placenta humain	108

IV- Les objectifs de travail.....109

Résultats	110
I- Etat des lieux	111
II- Article I	114
A- Introduction	114
B- Résultats et discussion	115
III- Article 2	118
A- Introduction	118
B- Résultats et discussion	118
IV- Article 3	124
A- Introduction	124
B- Résultats et discussion	124
Discussion et Perspectives	127
I. ERRy, un nouveau facteur présent à l'interface fœto-maternelle	129
II. ERRy, un nouveau facteur régulateur de la différenciation trophoblastique	131
A) Dans les conditions physiologiques	131
B) Dans les conditions pathologiques	133
III. ERRy et les mitochondries dans le développement placentaire	135
Bibliographie	140
Résumé	166
Abstract	167

Figures et Tableaux

Figure 1 : Les différentes étapes de l'implantation humaine.	18
Figure 2 : Constitution de la villosité chorale placentaire	19
Figure 3 : Les deux voies de différenciation du trophoblaste humain.....	21
Figure 4 : Les circulations sanguines maternelles et fœtales du placenta humain	23
Figure 5 : Profils hormonaux dans le sang maternel au cours du cycle ovarien et au début de la grossesse.....	25
Figure 6 : Fonctionnement des syncytines et de leurs récepteurs dans la fusion cellulaire. ..	36
Figure 7 : Représentation schématique du renouvellement du ST..	38
Figure 8 : Facteurs régulateurs de la syncytialisation du trophoblaste humain.	45
Figure 9 : Les marqueurs de la différenciation du CTEV.	50
Figure 10 : Facteurs régulateurs de l'invasion du trophoblaste humain.	58
Figure 11 : Schéma simplifié de la physiopathologie de la PE.	64
Figure 12 : Courbes de croissance du poids fœtal au cours de la grossesse	68
Figure 13 : La biogenèse mitochondriale.	73
Figure 14 : Voies rétrogrades mitochondriales.....	75
Figure 15 : Structure commune des ERs et des ERRs.....	81
Figure 16 : Mécanisme d'action des ERRs.....	84
Figure 17 : Eléments de réponse putatifs du promoteur d'ERRy	91
Figure 18 : Structure des isoformes protéiques d'ERRy.....	92
Figure 19 : Implication d'ERRy dans le métabolisme énergétique.	95
Figure 20 : Régulation circadienne d'ERRy dans différents organes de la souris	100
Figure 21 : Régulation de l'expression d'ERRy.	107

Figure 22 : Régulation de l'activité d'ERRγ.....	107
Figure 23 : Expression des ARNm des récepteurs aux œstrogènes ERα et ERβ, et des récepteurs apparentés aux récepteurs aux oestrogènes ERRβ et ERRγ dans différents modèles cellulaires trophoblastiques	113
Figure 24 : Expression des ARNm de PPARγ, MCAD, PDK4 et PGC-1α	113
Figure 25 : Bilan des résultats de l'article 2.	122
Figure 26 : Bilan général des résultats.	128
Figure 27 : Rôle potentiel d'ERRγ dans la décidualisation de l'endomètre humain.	131
Figure 28 : Implication du triptyque ERRγ-PGC-1α-PPARγ dans l'équilibre énergétique et le développement placentaire.	135
Figure 29 : Rôle potentiel d'ERRγ dans la mitochondrie au cours de la différenciation du trophoblaste humain.....	139
Tableau 1 : Récapitulatif de la production hormonale du placenta humain.	29
Tableau 2 : Principaux agents pathogènes capables de traverser la barrière placentaire.....	32
Tableau 3 : Marqueurs sériques dérégulés au cours de la PE.	66
Tableau 4 : Liste des agonistes et des antagonistes des ERRs.	85
Tableau 5 : Rôles des ERRs	89

Abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
AG	Acides Gras
AMP	Adénosine mono-phosphate
AMPC	Adénosine mono-phosphate cyclique
ANG	Angiogénine
AP-2	Activating protein-2
ARN	Acide ribonucléique
ASCT	Sodium-dependent transporters of polar neutral amino acids
ATF6	Activating transcription factor 6
ATP	Adénosine tri-phosphate
BPA	Bisphénol A
CAM	Calmoduline
CCCP	Carbonyl cyanide-m-chlorophenylhydrazone
Clpp	Caseinolytic mitochondrial matrix peptidase proteolytic subunit
c-Myc	V-myc avian myelocytomatosis viral oncogene homolog
COS	SV40-transformed simian cells
COX6c	Cytochrome c oxidase subunit 6C
CREB	cAMP response element-binding protein
CSF-R	Colony stimulating factor receptor
CT	Cytotrophoblaste
CTEV	Cytotrophoblaste extra-villeux
CTV	Cytotrophoblaste villeux
DAF	Decay accelerating factor
DBD	Domaine de liaison à l'adn
DES	Diethylstilbestrol
DLX3	Distaless homeobox 3
DLX4	Distaless homeobox 4
DMEM/F12	Dulbecco's modified eagle medium/nutrient mixture F-12
E₂	Oestrogènes
E-cadhérine	Cadhérine épithéliale
EGF	Epithelial growth factor
EG-VEGF	Endocrine gland-derived vascular endothelial growth factor
Erb2	Epidermal growth factor receptor-2
ERK1/2	Extracellular signal-regulated kinases 1/2
ERRs	Estrogen related receptors
ERRα	Estrogen related receptor α
ERRβ	Estrogen related receptor β
ERRγ	Estrogen related receptor γ
ERs	Récepteurs aux oestrogènes
FADH2	Flavine adénine dinucléotide
FAT	Fatty acid translocase
FATP	Fatty acid transport protein
FGF	Fibroblast growth factor

FIV	Fécondation <i>in vitro</i>
FSH	Hormone folliculo-stimulante
GCM1	Glial cell missing factor
GH	Growth hormone
GLUTs	Glucose transporters
GM-CSF	Granulocyte macrophage colony stimulating factor
GNL3L	Guanine nucleotide binding protein-like 3
HASH-2	Human achaete-scute homologue-2
hCG	Hormone chorionique gonadotrope humaine
HeLa	Henrietta Lacks' cells
HELLP	Hemolysis, Elevated Liver enzyme, Low Platelets
HERV	Human endogenous retroviruses
HERV-FRD	Syncytine 2
HERV-W	Syncytine 1
HGF	Hepatocyte growth factor
HIF	Hypoxia inducible factor
HLA	Antigène du complexe majeur d'histocompatibilité
HLX	H2.0-like homeobox
hPGH	Hormone de croissance placentaire
hPL	Hormone lactogène placentaire
IAP	Inhibitor of apoptosis
ICC	Immuno-cyto-chimie
Id-2	Inhibitor of DNA binding-2
IDA	Idazoxan
IGF-I et II	Insulin like growth factor-1 et 2
IGFBP-1	Insulin-like growth factor binding protein-1
IgG	Immunoglobuline G
IHC	Immuno-histo-chimie
Ikx	Ikaros isoform x
IL-1	Interleukine-1
IL-6	Interleukine-6
IVG	Interruption volontaire de grossesse
JAK	Janus kinase
JNK	c-Jun N-terminal kinase
KO	Knock-out
LBD	Domaine de liaison du ligand
LDH	Lactate déshydrogénase
LH	Hormone lutéinisante
LIF	Leukemia inhibitory factor
MAPK	Mitogen activated protein kinase
MCAD	Medium chain co-A deshydrogenase
MCAM	Melanoma cell adhesion molecule
MCP	Monocyte chemotactic protein
MEC	Matrice extra-cellulaire
Mfn	Mitofusine
MFSD2	Major falcitator superfamily domain containing 2
miARN	Micro-ARN

MMP	Métalloprotéase matricielle
MT-MMP	Métalloprotéase matricielle membranaire
mTOR	Mammalian target of rapamycin
MUC-1	Mucine-1
NADH,H⁺	Nicotinamide andénine di nucléotide H ⁺
NCAM	Neural adhesion molecule
NK	Natural killer
NLS	Séquence de localisation nucléaire
NRF1	Nuclear respiratory factor-1
NRF2	Nuclear respiratory factor-2
NR2F2	Nuclear receptor sub-family 2 member 2
NTD	Domaine N-terminal
O₂	Oxygène
PAIs	Plasminogen activators inhibitors
PAPP-A	Protéine plasmatique placentaire A
PCR	Polymerase chain reaction
PDH	Pyruvate déshydrogénase
PDK	Pyruvate déshydrogénase kinase
PE	Prééclampsie
Pg	Progestérone
PGC-1α/β	PPAR γ coactivateur-1 α/β
PI3K/Akt	Phosphoinositide-3-kinase/Akt, aussi appelée phosphokinase B
PIBF	Progesterone-induced blocking factor
PIF	Facteur pré-implantatoire
PKA	Protéine kinase A
PKC	Protéine kinase C
PIGF	Placental growth factor
POLMRT	Mitochondrial DNA direct polymerase
PPAR-α	Peroxisome proliferator activator receptor α
PPAR-β/δ	Peroxisome proliferator activator receptor β/δ
PPAR-γ	Peroxisome proliferator activator receptor γ
PRs	Récepteurs à la progestérone
RCIU	Retard de croissance intra-utérin
RIP-140	Ribosomal protein-140
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
RPBjk	Recombination signal-binding protein 1, Stox1: storkhead box-1
RPMI	Roswell Park Memorial Institute medium
RXR	Récepteur de l'acide rétinoïque
S-DHEA	Déhydro-épiandrostérone
sEng	Endogline soluble
sFlt-1	Soluble fms-like tyrosine kinase 1
SHP	Small heterodimer partner
SIRT1	Sirtuine 1
SMILE	Small heterodimer partner interacting leucine zipper protein
SNC	Système nerveux central
SNP	Single nucleotid polymorphism
SOD	Superoxyde dismutase

SP1	Specificity protein-1
SRC	Steroid receptor coactivator
ST	Syncytiotrophoblaste
STAT	Signal Transducer and Activator of Transcription
STOX1	Storkhead box 1
SUMO	Small ubiquitin-related modifier
SVF	Sérum de veau foetal
TCA	Cycle des acides tri-carboxyliques
TCF4	Transcription factor-4
TEF5	Transcriptional enhancer factor-5
TFAM	Transcription factor A, mitochondrial
TGF-β	Transforming growth factor- β
TGIF-1	Transforming growth factor- β -induced factor
Th	Lymphocyte T helper
TIMPs	Tissues inhibitors of metalloproteases
TNF-α/β	Tumour necrosis factor- α/β
TSH	Hormone thyroïdienne
UCP1	Uncoupling protein-1
uNK	Uterine natural killer
VE-cadhérine	Cadhérine vasculaire endothéliale
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
Wnt	Wingless
XIAP	X-linked inhibitor of apoptosis protein
YY-1	Ying yang-1
ZO-1	Zonula occludens-1

Introduction

I- Le placenta humain

« Embryologie humaine: De la molécule à la clinique » F. Encha-Razavi & E. Escudier, 2011.

« Le placenta humain » D. Evain-Brion & A. Malassiné, 2010.

« Implantation et placentation : Physiologie, pathologies et traitements » J.C. Challier *et al.*, 2001.

A- Développement du placenta humain

L'ovocyte humain est de type oligolécithe, c'est-à-dire qu'il contient peu de réserves nutritives. Ainsi, l'embryon humain dépend entièrement de l'accès aux réserves nutritives maternelles pour son développement. La mise en place du placenta, qui constitue une structure d'échange capable de pourvoir aux besoins du fœtus tout au long de la grossesse, est donc de première importance. La première étape du développement placentaire débute par l'implantation de l'embryon dans l'endomètre maternel.

1) Fenêtre implantatoire

Le succès de l'implantation repose sur un dialogue interactif entre un endomètre réceptif et un embryon fonctionnel. Cette véritable « symbiose » nécessite une synchronisation préalable entre la différenciation des cellules endométriales et celle de l'embryon. La période où cette synchronisation est effective définit les concepts de **fenêtre implantatoire** et de **réceptivité utérine**. Les observations de la fécondation in vitro (FIV) montrent que la fenêtre implantatoire est située entre les jours 20 à 24 du cycle menstruel. En dehors de la fenêtre implantatoire, l'embryon ne peut pas s'implanter dans l'utérus, alors qu'il a la capacité de s'implanter dans d'autres tissus du corps humain (cas des grossesses extra-utérines).

L'endomètre est constitué d'un **épithélium glandulaire polarisé** soutenu par des **cellules stromales** à renouvellement cyclique. Il contient également des cellules du **système immunitaire**, telles que les polynucléaires, les macrophages et les cellules Natural Killer (NK). Au cours du cycle menstruel, l'endomètre subit des modifications morphologiques et biochimiques nécessaires à l'adhésion d'un éventuel embryon. Ces modifications sont contrôlées et induites par les sécrétions cycliques d'œstradiol et de progestérone. Le nombre de récepteurs aux œstrogènes (ERs) et à la progestérone (PRs) augmente progressivement tout au long de la phase proliférative du cycle, pour atteindre un maximum à l'ovulation. L'augmentation de l'expression de ces récepteurs dans les cellules endométriales les rend plus réceptives aux messages hormonaux et coordonne leurs transformations. Plus précisément, à la fin du cycle ovarien, les œstrogènes induisent la prolifération des cellules épithéliales et stromales (**phase proliférative**). Après l'ovulation, la progestérone induit une phase de différenciation cellulaire, ou **décidualisation (phase lutéale)**.

Ainsi, la densité de **l'épithélium glandulaire** est progressivement diminuée. Plus précisément, la composition en collagène de la matrice extracellulaire (MEC) de l'épithélium glandulaire utérin est modifiée en faveur de fibres de collagène de type IV moins denses pour faciliter l'entrée de l'embryon. Le nombre de jonctions serrées est également diminué, et l'épithélium utérin perd ses microvillosités (Brosens *et al.*, 1999). Le profil d'expression des intégrines est également modulé au cours de la décidualisation afin de faciliter l'invasion de l'embryon. Les intégrines sont des récepteurs membranaires des protéines de la MEC constituées de deux sous unités, α et β , dont il existe de nombreux variants. Selon les hétérodimères $\alpha\beta$ constitués, ceux-ci vont interagir avec des éléments de la MEC spécifiques. Ainsi, les sous-unités $\alpha 1$, $\alpha 4$, $\beta 3$, αv et $\beta 1$ apparaissent spécifiquement durant la phase lutéale. De plus, au cours de la décidualisation, les cellules épithéliales glandulaires sécrètent une plus grande quantité de

glycoprotéines telles que les mucines qui participent à l'accrochage de l'embryon sur l'épithélium utérin. Elles sécrètent aussi une quantité croissante de glycogène qui constitue la réserve énergétique de l'embryon dans les premières étapes de développement. L'épithélium glandulaire exprime également des peptidases telles que la pro-protéine convertase 6 et des métalloprotéases qui facilitent l'expansion du tissu et régulent le turn-over des protéines régulatrices (Salamonsen *et al.*, 2003).

En parallèle, les **cellules stromales** se transforment en larges cellules polygonales. Leur ultrastructure se modifie et se rapproche de la structure des cellules endothéliales et des myofibroblastes. De plus, elles sécrètent un grand nombre de facteurs solubles agissant par voie autocrine ou paracrine sur le cytosquelette pour favoriser la prolifération, la motilité ou l'invasion cellulaire tels que l'epithelial growth factor (EGF) (Biadasiewicz *et al.*, 2011), le fibroblast growth factor (FGF) (Anteby *et al.*, 2004), l'insulin growth factor-I (IGF-I) (Lacey *et al.*, 2002), la **prolactine** (Stefanoska *et al.*, 2013) et les interleukines-1 et 6 (IL-1 et 6). Les cellules déciduales sécrètent aussi des facteurs solubles capables de freiner l'invasion trophoblastique tels que l'**insulin growth factor-binding protein-1 (IGFBP-1)** (Irwin and Giudice, 1998) , le transforming growth factor- β 1 (TGF β -1) (Prossler *et al.*, 2014), et des antiprotéases (inhibiteurs des métalloprotéases et inhibiteur de l'activateur du plasminogène).

Enfin, la décidualisation induit également des modifications des cellules immunitaires. Ces modifications seront détaillées dans la section I-B-4.

2) Implantation

L'implantation embryonnaire est un phénomène biologique unique qui repose sur deux paradoxes. D'une part, elle débute par l'apposition et l'adhésion de deux épithéliums

d'origines différentes, l'une embryonnaire, l'autre maternelle. D'autre part, elle peut être considérée comme une greffe semi-allogénique, puisque l'embryon possède la moitié du génome paternel, et devrait donc être rejeté par l'organisme maternel. Ce processus a pourtant lieu et implique une synchronisation parfaite entre la réceptivité utérine et le développement embryonnaire.

Le développement du placenta débute avec l'implantation de l'embryon dans l'endomètre maternel au stade **blastocyste**, sept jours après la fécondation (J7). A ce stade, l'embryon est constitué d'une couche de cellules externes, le **trophoblaste**, entourant une cavité, le **blastocèle**, et d'une **masse de cellules internes** qui deviendra le futur embryon. Les cellules trophoblastiques donneront naissance aux annexes embryonnaires. Plus précisément, les cellules trophoblastiques proches du bouton embryonnaire formeront le placenta, et le reste du trophoblaste constituera les annexes embryonnaires (amnios et chorion) (Figure 1).

Lorsque le blastocyste arrive dans la cavité utérine cinq jours après la fécondation. Il se libère de son enveloppe pellucide grâce à l'action de protéases produites par le trophoblaste, six à sept jours après la fécondation, il s'agit de l'éclosion.

Au cours de la **phase d'apposition**, l'embryon s'oriente de façon à présenter son pôle embryonnaire face à l'endomètre utérin et s'y accole. Puis les cellules trophoblastiques et endométriales établissent des jonctions au cours de la phase **d'adhésion**. Enfin, l'embryon s'enfouit dans l'endomètre et les cellules trophoblastiques se différencient en deux populations au cours de la **phase d'invasion**, les cytotrophoblastes (CTs) au contact de l'embryon, et le syncytiotrophoblaste (ST).

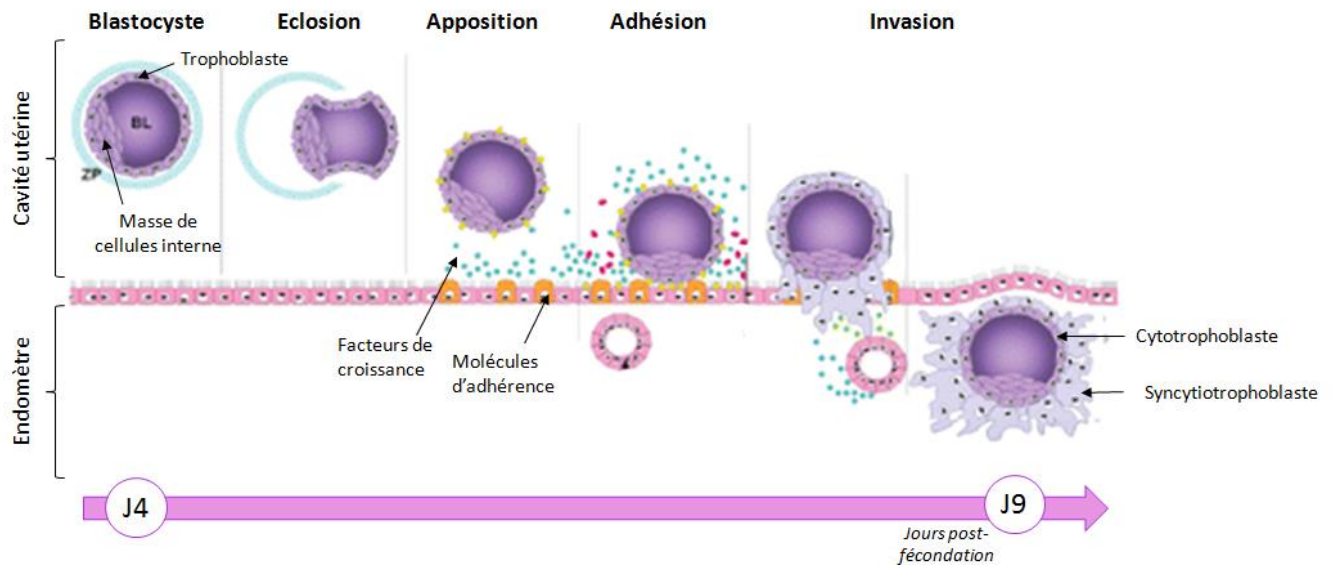


Figure 1 : Les différentes étapes de l'implantation humaine. Modifié d'après Fitzgerald et al. 2008.

ZP : zone pellucide, BL : Blastocèle.

3) Mise en place des villosités chorales

L'unité structurale et fonctionnelle du placenta humain est la **villosité chorale**. Au milieu de la seconde semaine de grossesse, des lacunes apparaissent dans le ST qui continue à s'étendre dans l'endomètre maternel. Ces lacunes délimitent des travées de ST, et constituent ainsi les ébauches des villosités. Lorsque les CTs colonisent ces travées, on parle de **villosité chorale primaire** (Figure 2).

Deux semaines après la fécondation, les villosités primaires sont envahies par le mésenchyme allantoïdien d'origine embryonnaire et sont alors appelées **villosités chorales secondaires**. Enfin, les capillaires fœtaux apparaissent dans l'axe mésenchymateux vers le 18^{ème} jour de grossesse. La villosité a acquis sa constitution définitive et sera appelée **villosité chorale tertiaire**. L'axe villositaire contient également des cellules macrophagiques dénommées **cellules de Hoffbauer**. Les ébauches des vaisseaux sanguins placentaires se raccordent aux vaisseaux ombilico-allantoidien, et permettent le début de la circulation sanguine fœtale

après l'apparition des premiers battements cardiaques de l'embryon. Au cours de la grossesse, la villosité tertiaire conserve l'organisation décrite précédemment, et développe progressivement de nouvelles arborescences pour augmenter les surfaces d'échanges, et assurer un apport nutritionnel approprié aux besoins croissants du fœtus. A terme, cette surface représente environ 14 m². Le réseau vasculaire placentaire se développe en conséquence pour assurer l'extension du réseau capillaire jusqu'aux villosités terminales. A terme, ce réseau est extrêmement développé et contient plus de 55 km de vaisseaux fœtaux placentaires. On distingue les villosités « **flottantes** », libres dans la chambre intervillieuse, et les villosités « **crampons** », ancrées dans l'endomètre maternel (Alsat and Evain-Brion, 1999).

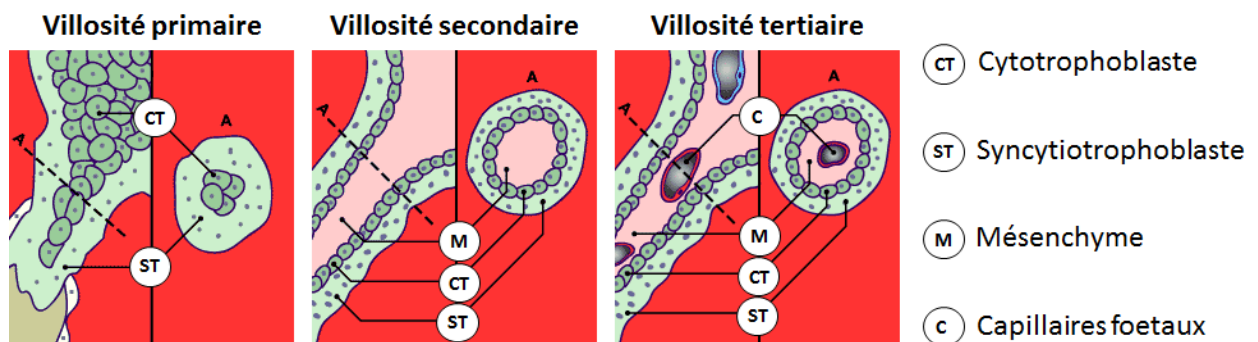


Figure 2 : Constitution de la villosité chorale placentaire : stade primaire (J9), secondaire (J15) et tertiaire (J18). D'après le site « Embryologie humaine » (<http://www.embryology.ch/>).

4) Les voies de différenciation du trophoblaste

Dès l'apposition du blastocyste sur l'endomètre, le trophoblaste initie sa différenciation selon deux voies : le **cytotrophoblaste villex (CTV)**, et le **cytotrophoblaste extra-villex (CTEV)** (Figure 3). Trois semaines après la fécondation, le trophoblaste villex recouvre la villosité chorale dans sa structure définitive. La couche cellulaire externe composée de ST et la couche interne composée de CTs se sont différenciées à partir du trophectoderme lors des stades

précoces de l'implantation. Cette différenciation se poursuit tout au long de la grossesse pour assurer le renouvellement de la couche syncytiale dans la villosité. Le ST résulte de la fusion des CTVs. Le ST est hautement polarisé et possède à sa membrane apicale de nombreuses microvillosités augmentant la surface d'échange (Evain-Brion, 2001). En contact direct avec l'espace intervilloux, le **ST assure les échanges fœto-maternels, la production hormonale, l'hémostase dans la chambre intervillieuse et joue un rôle de barrière protectrice du fœtus.**

Les trophoblastes extra-villoux se différencient à partir des colonnes de cellules à la base de la villosité crampon. Les CTs évoluent d'un état de cellules épithéliales polarisées à un état prolifératif avec perte de polarité. Ils sont alors capables de proliférer et de migrer dans l'endomètre, et interagissent avec les nombreuses cellules maternelles constitutives ou infiltrées dans le tissu utérin. **Le rôle du trophoblaste extra-villoux est d'assurer l'ancrage du placenta et le remodelage des artères spiralées maternelles.**

A la fin de la nidation, entre 4 et 6 semaines de grossesse, le ST perd ses capacités invasives au profit du trophoblaste extra-villoux et celui-ci se différencie alors en deux types cellulaires. D'une part, les cellules extra-villieuses envahissent profondément l'endomètre jusqu'au premier tiers du myomètre, qu'elles atteignent vers la 8^{ème} semaine de grossesse. Elles fusionnent alors pour former les **cellules géantes**. D'autre part, les trophoblastes extra-villoux invasifs migrent vers les parois des artères utérines par voies endo et péri-vasculaires. Elles acquièrent un phénotype de **cellules endo-vasculaires** et remodelent progressivement l'endothélium des artères utérines maternelles jusque dans le tiers supérieur du myomètre. Le remodelage des artères spiralées est un processus physiologique crucial pour le bon déroulement de la grossesse. Il permet d'augmenter l'apport sanguin tout en réduisant la résistance du flux sanguin dans la chambre intervillieuse. Ce remodelage est altéré dans des

pathologies de la grossesse telles que la prééclampsie et le retard de croissance intra-utérin. Le remodelage artériel débute très précocement. Un premier remodelage, indépendant des CTEVs, entraîne une désorganisation généralisée de ces artères, avec une dilatation de leur diamètre et une désorganisation de la tunique musculaire. Puis le remodelage est finalisé suite à l'arrivée des CTEVs. Il en résulte une destruction de la paroi musculaire lisse des artères spiralées, remplacée par une substance fibrinoïde atone. Le remodelage se termine entre 10 et 14 semaines de grossesse (Knöfler, 2010; Lyall, 2005).

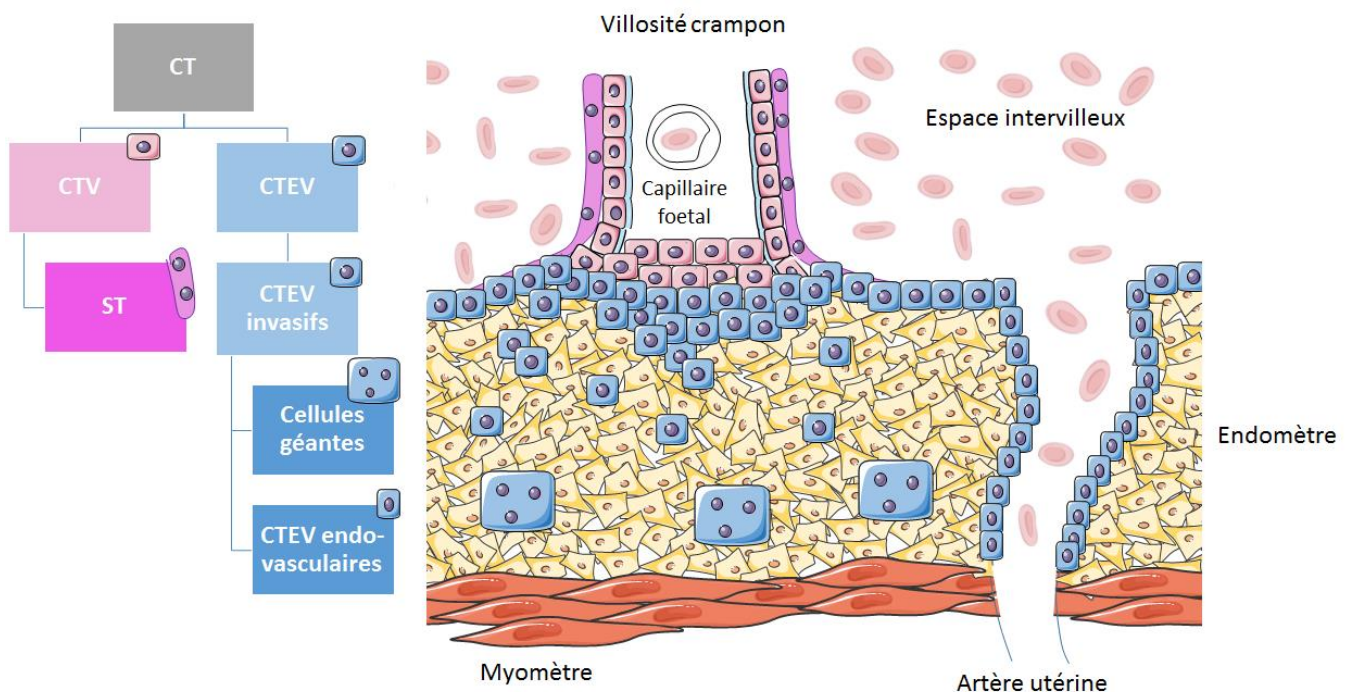


Figure 3 : Les deux voies de différenciation du trophoblaste humain.

5) Mise en place de la circulation maternelle placentaire

Le développement initial du placenta se déroule en **état d'hypoxie relative**, avec une pression partielle en oxygène inférieure à 20 mm Hg. En effet, avant 10 semaines de grossesse, des bouchons de CTEV à la sortie des artères spiralées empêchent le passage du flux sanguin dans l'espace intervilloux. L'état hypoxique protège le placenta, qui ne présente pas encore de système de défense antioxydant contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS). A ce stade

de développement, les nutriments sont fournis par les sécrétions des glandes endométriales maternelles et par l'infiltrat du plasma sanguin à travers les bouchons de CTEV. D'autre part, l'état d'hypoxie relative induit l'expression du facteur de transcription HIF-1 α (Hypoxia Inducible factor-1 α), qui favorise le développement précoce en favorisant l'expression de facteurs pro-angiogéniques et en favorisant la prolifération cellulaire (Aplin, 2000; Tuuli *et al.*, 2011). **Entre 10 et 12 semaines de grossesse, les bouchons de CTEV se désintègrent progressivement**, depuis la périphérie du placenta jusqu'à son centre, au niveau du cordon ombilical. Le sang maternel irrigue l'espace intervilloux et l'environnement placentaire est alors soumis à un environnement normoxique avec une pression partielle en O₂ entre 40 et 80mm Hg. Puis la tension partielle en oxygène diminue progressivement jusqu'à 40 mm Hg au cours du troisième trimestre de grossesse (Tuuli *et al.*, 2011).

Dans l'espèce humaine, les circulations sanguines fœtale et maternelle restent séparées jusqu'à la délivrance. Le réseau vasculaire foeto-placentaire est un système clos, et les échanges foeto-maternels se font à travers les couches cellulaires trophoblastiques.

6) Le placenta définitif

Le placenta humain atteint sa structure définitive vers la fin du 1^{er} trimestre de grossesse. Il se subdivise en unités appelées **cotylédons**. A terme, c'est un disque d'environ 500 grammes, soit environ 1/6^{ème} du poids fœtal. Au site d'implantation du cordon ombilical, son épaisseur mesure entre 3 à 4 cm, et son diamètre varie entre 15 et 20 cm. Il présente deux faces d'aspects distincts. La **face fœtale** est d'aspect lisse et membraneux, sur laquelle s'implante le cordon ombilical. La **face maternelle**, d'aspect spongieux, est au contact de la muqueuse utérine. Cette face est creusée de sillons placentaires qui délimitent les cotylédons (Alsat and Evain-Brion, 1999).

Au cours du deuxième trimestre de grossesse, la couche de CTV se réduit progressivement, les quelques CTVs restant jouent le rôle de « cellules souches » et permettent de renouveler le ST. Ainsi, les circulations sanguines maternelles et fœtales sont séparées par une couche de ST et l'endothélium des capillaires. Les échanges sont facilités, ce qui permet d'accompagner la hausse des besoins nutritionnels au cours de la grossesse.

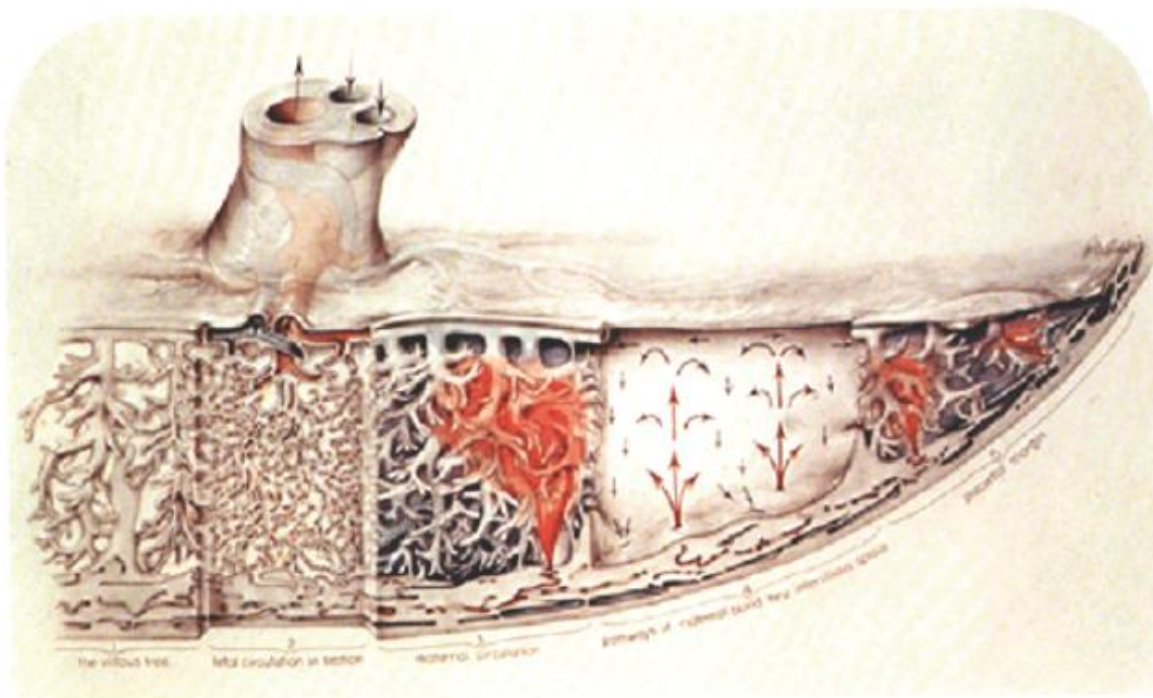


Figure 4 : Les circulations sanguines maternelles et fœtales du placenta humain. D'après Ramsey EM, Donner MW.

B- Les fonctions du placenta

1) La fonction endocrine

Le syncytiotrophoblaste humain est la glande endocrine du placenta. Il sécrète des quantités importantes d'hormones stéroïdes et polypeptidiques indispensables au maintien et au bon déroulement de la grossesse.

a. Hormones stéroïdes

La production hormonale ovarienne permet les modifications endométriales nécessaires à l'implantation et au développement précoce de l'embryon. Puis, dès la 8^{ème} semaine de grossesse, le placenta prend le relais. Des quantités considérables de **progestérone (Pg)** et d'**oestrogènes (E₂)** sont ainsi synthétisées par le ST (Halasz and Szekeres-Bartho, 2013).

Trois types d'oestrogènes, (**œstradiol**, **œstrone** et **oestriol**) sont produits par le placenta. Cependant, le placenta n'exprime pas la cytochrome p450 17 α -hydroxylase. Ainsi, une partie de la progestérone placentaire est convertie en sulfate-déhydro-épiandrostérone (S-DHEA) par les glandes surrénales fœtales. La S-DHEA sert de précurseur à la biosynthèse des œstrogènes dans le placenta. Les œstrogènes jouent un rôle primordial pour l'implantation embryonnaire et le développement des glandes mammaires au cours de la grossesse.

La **progestérone** assure la différenciation de l'endomètre lors de la phase lutéale. Après l'implantation, elle permet le maintien de la grossesse. Son expression augmente progressivement au cours de la grossesse. Son effet myorelaxant évite le rejet de l'embryon. A terme, la concentration plasmatique de progestérone est de l'ordre de 150 à 175 ng/mL, et celle des oestrogènes de 6 à 30 ng/mL (Schindler, 2005; "Steroid Endocrinology of Pregnancy," 2009).

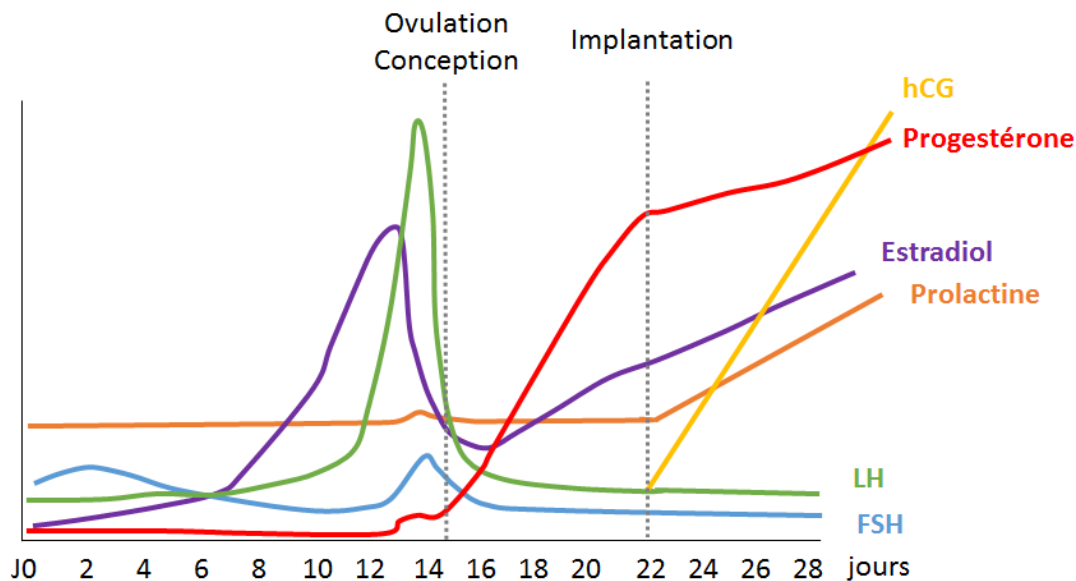


Figure 5 : Profils hormonaux dans le sang maternel au cours du cycle ovarien et au début de la grossesse. D'après Schindler, 2005.

hCG : hormone chorionique gonadotrope humaine, LH : hormone lutéinisante, FSH : hormone folliculo-stimulante.

b. Hormones polypeptidiques

L'hormone chorionique gonadotrope humaine (hCG) est une glycoprotéine de 40 à 45 kDa spécifique aux grands singes et à l'Homme. Elle est composée de la sous-unité alpha (**αhCG**) et de la sous-unité bêta (**βhCG**). L'αhCG est commune à d'autres hormones peptidiques telle que la **LH** (hormone lutéinisante), la **FSH** (hormone folliculo-stimulante), et la **TSH** (hormone thyroïdostimulante). La βhCG confère la spécificité biologique de l'hormone. La sous-unité α est codée par un seul gène, tandis que la sous-unité β est codée par 6 gènes différents (β1, β2, β3, β5, β87 et β8) localisés dans un groupe multigénique sur le chromosome 19. Le placenta exprime préférentiellement les chaînes β3, β5, et β8, l'isoforme majoritairement exprimée dans le placenta étant hCG β5 (Miller-Lindholm *et al.*, 1997). L'effet de l'hCG est médié par les **récepteurs LH/CG** et l'activation de la voie de l'AMPC. L'hCG existe sous différentes formes glycosylées : souffrée (produite par l'hypophyse), peu glycosylée, hyper-glycosylée, sous-unité

β libre et sous-unité β libre glycosylée (Cole, 2012). L' α hCG possède 2 sites de N-Glycosylation et la β hCG possède 2 sites de N-glycosylation et 4 sites d'O-glycosylation (Elliott *et al.*, 1997). Le placenta exprime principalement la forme peu glycosylée et la forme hyper-glycosylée. Il a été montré que le profil des glycosylations varie au cours de la grossesse et selon le type de cellules placentaires. En effet, la forme hyperglycosylée, ou H-hCG est la forme majoritaire dans les premiers stades de la grossesse. Puis, on observe une inversion du ratio en faveur de l'hCG peu glycosylée entre 6 et 7 semaines de grossesse, en corrélation avec l'augmentation de la masse syncytiale. Ainsi, l'hCG peu glycosylée est majoritairement produite par le syncytiotrophoblaste, tandis que l'H-hCG est produite par les CTEVs invasifs et les CTVs (Guibourdenche *et al.*, 2010; Kovalevskaya *et al.*, 2002). La sécrétion d'hCG est très précoce. **Elle débute dès la 2^{ème} semaine de grossesse. L'hCG est le premier signal trophoblastique détectable dans le sang maternel et est fréquemment utilisée pour le diagnostic précoce d'une grossesse.** La production d'hCG augmente rapidement jusqu'à la 12^{ème} semaine de grossesse, puis décroît brutalement pour se stabiliser à un plateau jusqu'à la fin de la grossesse. Elle est liée à la masse de syncytiotrophoblaste, qui est le site producteur majoritaire d'hCG dans le placenta humain. Enfin, les taux d'hCG circulants peuvent être modifiés au cours de certaines complications de la grossesse telles que les grossesses extra-utérines et la trisomie 21, ainsi que dans certains cancers.

Les différentes formes d'hCG ont des effets biologiques différents. La production d'hCG est indispensable au maintien de la grossesse, car elle assure le maintien du corps jaune et par conséquent, la production d'œstrogènes et de progestérone nécessaire au développement de l'embryon jusqu'à ce que la production placentaire soit suffisante. De plus, l'hCG a une action paracrine et autocrine dans la différenciation du trophoblaste qui seront précisées dans la section I-C-1-d et I-C-1-b.

L'hormone lactogène placentaire (hPL) est constituée d'une simple chaîne polypeptidique de 22 kDa non glycosylée. Elle est codée par un gène situé sur le chromosome 17. L'hPL est synthétisée exclusivement par les cellules trophoblastiques, et majoritairement par le syncytiotrophoblaste. L'hPL est détectable dans le sang maternel dès la 3^{ème} semaine de grossesse. Sa concentration augmente jusqu'au terme, reflétant ainsi l'accroissement de la masse syncytiale. C'est l'hormone peptidique la plus abondamment produite par le placenta humain. A la fin du troisième trimestre de grossesse, l'hPL représente 10% de la biosynthèse protéique du ST. Cependant, le rôle physiologique de l'hPL dans le placenta est encore mal connu. En plus de son rôle dans la préparation de l'organisme maternel à la lactation, il semblerait que l'hPL joue un rôle dans le métabolisme énergétique maternel. L'hPL stimule la synthèse d'**IGF-I** et d'insuline, augmentant ainsi la disponibilité en glucose et en acides aminés pour le développement foetal. Une déficience totale en hPL est rare, et n'a pas d'incidence sur la grossesse, ce qui suggère que l'hPL ne soit pas une hormone indispensable à la grossesse (Simon *et al.*, 1986).

L'hormone de croissance placentaire (hPGH) est exclusivement produite par le syncytiotrophoblaste et les CTEVs. Elle existe sous la forme de deux chaînes protéiques différentes, l'une glycosylée et l'autre non glycosylée, et diffère de l'hormone de croissance hypophysaire (GH) de 13 acides aminés. De même que pour l'hPL, la production d'hPGH augmente progressivement au cours de la grossesse, en relation avec l'augmentation de la masse placentaire, puis diminue brutalement à la parturition. Son rôle physiologique est également peu connu. Elle présente des propriétés similaires à l'hormone de croissance hypophysaire et partage les mêmes récepteurs. La production d'hPGH remplace d'ailleurs progressivement la production de GH hypophysaire à partir du 2^{ème} trimestre de grossesse. Il a été également montré que, comme l'hPL, l'hPGH favoriserait l'apport nutritionnel foetal.

L'hPGH est un régulateur majeur du métabolisme maternel. Par un mécanisme endocrine, elle semble réguler les taux d'IGF-I maternels, qui sont corrélés aux taux d'hPGH placentaires. Par cette régulation, l'hPGH serait responsable de l'insulino-résistance observée chez les femmes enceintes (Alsat *et al.*, 1998; Handwerger and Freemark, 2000; Kedzia *et al.*, 2013). Enfin, au 1^{er} trimestre de grossesse, l'hPGH favorise l'invasion des CTEVs dans l'endomètre maternel de façon autocrine (Lacroix *et al.*, 2005).

La **leptine** est un peptide de 16 kDa codé par le gène *ob*. C'est une adipokine sécrétée par les adipocytes et sa **concentration sérique est corrélée à la masse adipeuse en dehors de la grossesse**. La leptine est généralement connue pour son rôle satiétogène (Sobrino Crespo *et al.*, 2014). En effet, elle exerce son rôle principal dans l'hypothalamus en régulant la prise alimentaire et les dépenses énergétiques. Cependant, la leptine exerce également des effets périphériques tels que l'angiogenèse (Pucino *et al.*, 2014), l'hématopoïèse, l'ostéogenèse, la chondrogenèse (Wee and Baldock, 2014), le contrôle des fonctions neuro-endocriniennes (Farr *et al.*, 2014), de l'immunité (Maciolek *et al.*, 2014), le contrôle de la pression artérielle (Kang, 2013) et de la croissance cellulaire (Nalabolu *et al.*, 2014). Enfin, la leptine est une adipokine particulièrement impliquée dans la reproduction. En effet, les souris *ob -/-* sont stériles et un apport exogène de leptine restaure leur fertilité (Chehab *et al.*, 1996). Chez la femme, les taux sériques de leptine augmentent durant les deux premiers trimestres de grossesse puis restent constants au troisième trimestre. Enfin, la concentration circulante de leptine maternelle chute brutalement après la parturition et le retrait du placenta, suggérant une production placentaire de leptine. Une étude réalisée en 2000 précise que le ST est un site majeur de production de la leptine (Ashworth *et al.*, 2000). La production de leptine par le ST est hautement régulée par l'hCG et les œstrogènes. La leptine, via ses récepteurs spécifiques appelés Rob, exerce des effets autocrines dans le placenta. Plus précisément, elle

stimule la prolifération et inhibe l'apoptose des CTVs (Magariños *et al.*, 2007). De plus, elle favorise la différenciation des CTVs en ST en augmentant l'expression de l'hCG dans les CTVs (Cameo *et al.*, 2003). Enfin, elle stimule, de manière paracrine, l'invasion des CTEVs dans l'endomètre maternel (Basak and Duttaroy, 2012; Schulz and Widmaier, 2004). La leptine est aujourd'hui considérée comme une nouvelle hormone placentaire.

Tableau 1 : Récapitulatif de la production hormonale du placenta humain.

Type	Hormones	Rôles principaux
Hormones stéroïdes	Progestérone	Décidualisation de l'endomètre Implantation embryonnaire Maintien de la grossesse en limitant les contractions utérines
	Œstrogènes	Implantation embryonnaire Développement des glandes mammaires
Hormones polypeptidiques	hCG	Maintien de la grossesse Maintien du corps jaune et de la sécrétion d'hormones stéroïdes Différenciation et invasion placentaire
	hPL	Mise en place de la lactation Apport nutritionnel au fœtus
	hPGH	Apport nutritionnel au fœtus
	Leptine	Prolifération, développement, différenciation et invasion placentaire

2) La fonction d'échanges

Le placenta est responsable des échanges de nutriments de la mère vers le fœtus, ainsi que de l'évacuation des déchets fœtaux vers la mère. Le ST est l'acteur majeur des échanges fœto-maternels. La membrane apicale du ST présente des microvillosités afin d'augmenter les

surfaces d'échanges. L'**eau**, l'**urée**, l'**oxygène** et le **dioxyde de carbone** sont transférés de manière passive à travers les membranes. D'une façon générale, les molécules peu ionisées, liposolubles et de poids moléculaire inférieurs à 600 Daltons traversent aisément la membrane placentaire. Cependant, ce n'est pas une constante. Les antibiotiques tels que l'ampicilline et la méticilline, bien que très ionisés, traversent facilement le placenta car ils sont très liposolubles.

De nombreux éléments nécessaires au développement embryonnaire utilisent des transporteurs pour traverser la barrière placentaire.

a. Transport du glucose

Le glucose est transporté à travers la barrière placentaire par diffusion facilitée, via des transporteurs spécifiques appelés **GLUTs**. Les CTs expriment les isoformes GLUT1, GLUT3 et GLUT4. L'isoforme GLUT3 possède la plus grande affinité et la plus grande capacité de transport de glucose. Elle est retrouvée dans les tissus à forte activité métabolique tels que les cellules neuronales, ou les cellules embryonnaires (Janzen *et al.*, 2013). Le glucose maternel constitue la principale source énergétique du fœtus. Cependant, 60% du glucose transporté sera directement utilisé par le placenta pour la synthèse de lipides et de glycogène (Alsat and Evain-Brion, 1999).

b. Transport des lipides

Les lipides nécessaires au développement fœtal sont, pour la plupart, associés à des protéines de transport appelées les lipoprotéines. L'internalisation des lipoprotéines se réalise par endocytose après liaison à un récepteur spécifique. Les lipides sont ensuite hydrolysés en acides gras et glycérol par des lipases. Ils peuvent être transférés dans la circulation fœtale

par simple diffusion ou être pris en charge par des protéines de transport telles que les l'acide gras translocase (FAT) et la protéine de transport des acides gras (FATP).

c. Transport des acides aminés

Les acides aminés essentiels, issus de la dégradation des protéines maternelles, sont nécessaires et suffisants pour le fœtus. Leur transport à travers la membrane du syncytiotrophoblaste s'effectue à l'aide de transporteurs actifs. Il existe plusieurs transporteurs d'acides aminés, les systèmes Na^+ dépendants et Na^+ indépendants. Les **systèmes Na^+ dépendants** comportent les systèmes A (alanine, sérine, glycine), ASC (alanine, sérine, cystéine), N (histidine, asparagine, glutamine), B⁺ (acides aminés chargés + ou neutres), GLY (glycine, sarcosine) et X GA. Les **systèmes Na^+ indépendants** comprennent les systèmes y⁺ (majorité des acides aminés chargés +), L (tryptophane et acides aminés neutres), y⁺L (acides aminés chargés +), T (acides aminés aromatiques) et l'échangeur glutamate/cystéine (Xc⁻). Les acides aminés traversent ensuite la barrière placentaire vers les capillaires fœtaux grâce à un transport passif.

d. Transfert des immunoglobulines G

Les anticorps maternels, dont les immunoglobulines G (IgG) traversent la barrière placentaire par transcytose grâce à des récepteurs spécifiques. Ce transport sélectif d'IgG permet de protéger le fœtus jusqu'à ce que son propre système immunitaire soit suffisamment mature et capable de synthétiser ses propres immunoglobulines.

Les ions calcium, sodium et potassium sont également transportés via des transports actifs.

3) La barrière protectrice

Le placenta est également une barrière protectrice. Il protège le fœtus du passage d'un certain nombre d'agents pathogènes. Cependant, certains agents pathogènes sont capables de passer la barrière placentaire et d'induire des malformations majeures, en particulier si le passage a lieu au 1^{er} trimestre de grossesse (Tableau 2). Enfin, l'affinement de la paroi placentaire au dernier trimestre de la grossesse augmente la perméabilité de la barrière placentaire, diminuant ainsi son rôle protecteur.

Tableau 2 : Principaux agents pathogènes capables de traverser la barrière placentaire.

Vecteurs viraux	Vecteurs parasitaires
Rubéole	Tréponème mâle (Syphilis)
Varicelle	<i>Listeria monocytogène</i> (Listériose)
Cytomégalovirus	<i>Toxoplasma gondi</i> (Toxoplasmose)
Parvovirus B19	<i>Trypanosoma cruzi</i> (Maladie de Chagas)
Herpès génital	
VIH	
Chikungunya	
Dengue	

4) La barrière immunologique

L'embryon constitue une **greffe semi-allogénique**. En effet, il ne possède que la moitié du patrimoine génétique de l'individu greffé (celui de la mère). Pour que l'implantation ait lieu et que la grossesse se déroule dans de bonnes conditions, il est nécessaire que l'organisme maternel développe une **tolérance immunitaire** vis-à-vis du placenta humain, et que celui-ci limite la réaction immunitaire maternelle. Cette tolérance repose sur une modification du

système immunitaire maternel pendant la grossesse, et sur l'exposition d'antigènes particuliers de l'embryon et du placenta.

L'embryon doit faire face à trois types de menaces maternelles : la production d'anticorps cytotoxiques anti-paternels fixant et activant le complément (immunité acquise), l'activation des lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques anti-paternels (immunité acquise), et l'activation des cellules NK tueuses (immunité innée). Pour cela, l'embryon dispose de trois stratégies.

D'une part, les **cellules trophoblastiques sont peu antigéniques** car elles n'expriment **pas de molécules HLA de classe II**, connues pour initier la reconnaissance des allogreffes de l'hôte, et donc leur rejet. De plus, les CTEVs n'expriment pas les molécules de classe I (HLA-A et B), très polymorphes et expriment, au contraire, différentes molécules peu polymorphes telles que les **HLA-G, E et F**. De plus, le ST n'exprime pas de molécules HLA, à l'exception d'HLA-G sous la forme soluble.

D'autre part, **les cellules trophoblastiques sont résistantes à la lyse** par les lymphocytes T CD8⁺ et des cellules NK. En effet, elles sécrètent des molécules inhibitrices du complément telles que le DAF (decay accelerating factor) et la MCP (monocyte chemotactic protein). Elles produisent également de nombreuses molécules immunosuppressives (TGF- β , placental growth factor PIGF et HLA-G solubles). Les cellules T maternelles acquièrent ainsi un état de tolérance transitoire et réversible envers les allo-antigènes paternels. Pourtant, elles conservent leur capacité de lyse des cellules infectées ou étrangères. De plus, les CTs expriment un haut niveau d'inhibiteur des caspases XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis protein), qui les rend également plus résistants à la lyse des cellules immunitaires maternelles.

Enfin, suite à l'implantation embryonnaire, **la proportion et les propriétés des cellules immunitaires maternelles dans l'endomètre changent drastiquement**. Le nombre de **cellules**

NK croit très rapidement pour représenter près de 70% des cellules lymphoïdes dans la muqueuse utérine. Les cellules NK, présentes dans le sang et les organes lymphoïdes sont des effecteurs majeurs de l'immunité innée. Une fois activées, elles ont à la fois la capacité de lyser des cellules cibles présentant des antigènes du soi modifié, comme des cellules infectées ou tumorales, et de sécréter des cytokines. Cependant, le phénotype des cellules NK est modifié une fois dans la décidue au cours de l'implantation. Alors appelées cellules **uNK (uterine natural killer)**, elles présentent un potentiel cytotoxique contrôlé, et jouent un rôle important pour le bon déroulement de la grossesse, notamment pour la vascularisation placentaire (Le Bouteiller and Tabiasco, 2006). Par ailleurs, le maintien de la grossesse implique également la **balance Th-2/Th-1** des lymphocytes T helpers (lymphocytes Th). Les lymphocytes Th sont indispensables pour stimuler une réponse immunitaire. Ils se différencient en deux profils. Le profil **Th-1** produit des cytokines pro-inflammatoires (IL-2, interféron- γ et tumour necrosis factor- α TNF- α) qui induisent une réponse cellulaire et un rejet aigue des greffes allogéniques. Le profil **Th-2** produit des cytokines **anti-inflammatoires** (IL-4, 5, 6, 10, 13) qui induisent une réponse humorale et une inhibition de la réponse cellulaire (Elenkov, 2004). Un excès de lymphocytes Th-2 est un facteur favorable au bon déroulement de la grossesse. En revanche, un excès de lymphocytes Th-1 est associé à des fausses couches à répétitions. Actuellement, la nature des signaux placentaires qui permettent un équilibre en faveur des Th-2 reste inconnue (Kheshtchin *et al.*, 2010).

C- Contrôle du développement placentaire

1) La différenciation du trophoblaste villositaire

La différenciation du trophoblaste villositaire en ST s'accompagne de changements biochimiques (synthèse d'hormones) et morphologiques (fusion cellulaire). Cependant, ces deux

phénomènes ne sont pas obligatoirement liés. Des expériences *in vitro* révèlent que les CTVs peuvent être fusionnés et ne pas sécréter d'hormones. Inversement, les CTVs peuvent être différenciés biochimiquement mais ne pas être fusionnés (Al-Nasiry *et al.*, 2006; Pidoux *et al.*, 2012).

a. La différenciation morphologique

Le phénomène de fusion des CTVs en ST est encore mal connu. Cependant, plusieurs études ont mis en évidence le rôle de protéines membranaires dans le processus de fusion. Il s'agit des **protéines d'origine rétrovirale**, telles que les syncytines 1 et 2, et des **protéines de jonction**, telles que la connexine 43 ou encore la protéine ZO-1 (zonula occludens-1).

Le génome humain contient un grand nombre de séquences d'origine rétrovirale appelées HERV (human endogenous retroviruses) dont la plupart sont non codantes. Parmi les séquences HERV codantes, on trouve 18 gènes codants pour des **protéines d'enveloppe**. Les syncytines sont des protéines membranaires. Originellement exprimées à la surface des enveloppes virales, elles se lient sur des récepteurs endogènes spécifiques à la surface de la cellule cible, et induisent la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire. Ce système a été « réutilisé » dans le placenta pour réaliser la fusion entre deux cellules trophoblastiques (Figure 6) (Dupressoir *et al.*, 2012). Ces protéines sont particulièrement exprimées dans le ST, et leur expression augmente au cours de la syncytialisation des CTVs humains en culture primaire (Malassiné *et al.*, 2007). De plus, l'invalidation par ARN interférents de la **syncytine 1** et/ou de la **syncytine 2** inhibe la fusion spontanée des CTVs humains en culture primaire (Frendo *et al.*, 2003b). L'ensemble de ces travaux met en évidence le rôle essentiel des syncytines dans la différenciation morphologique des CTVs.

La syncytine 1 (HERV-W) se lie à des transporteurs des acides aminés appelés ASCT1 et ASCT2 (sodium-dependent transporters of polar neutral amino acids 1 et 2) (Lavillette *et al.*, 2002) et la syncytine 2 (HERV-FRD) interagit avec le récepteur MFSD2 qui appartient à la famille des transporteurs des hydrates de carbones (Esnault *et al.*, 2008). Enfin, les deux familles de transporteurs sont exprimées dans le ST (Blond *et al.*, 2000; Hayward *et al.*, 2007).

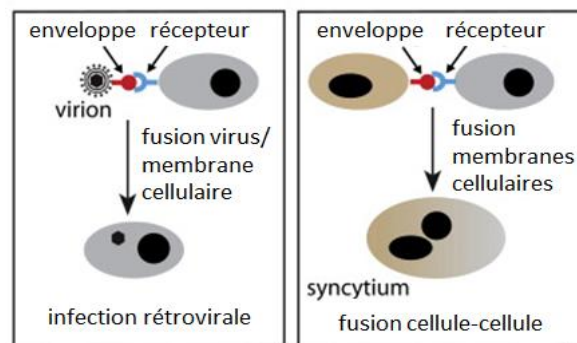


Figure 6 : Fonctionnement des syncytines et de leurs récepteurs dans la fusion cellulaire.
D'après Dupressoir, 2012.

Les protéines de **jonctions cellules-cellules** interviennent également dans le processus de fusion. Dans les cellules de la lignée trophoblastique humaine BeWo, le nombre de **jonctions serrées** augmente entre les cellules avant la syncytialisation afin de favoriser le rapprochement entre les cellules. Une étude récente montre que la protéine de jonction ZO-1 est nécessaire à la fusion *in vitro* des CTVs humains (Pidoux *et al.*, 2010). De plus, les **jonctions communicantes** sont également essentielles. La connexine 43 et les Gap junctions sont particulièrement importantes dans ce processus. L'invalidation de la connexine 43 par ARN interférents diminue très fortement la capacité de fusion des CTVs humains *in vitro* (Frendo *et al.*, 2003a). De plus, la suppression de la communication cellulaire des Gap junctions par photobleaching induit une inhibition réversible de la fusion des CTVs humains *in vitro* (Cronier *et al.*, 2003). Les **jonctions d'ancrage** interviennent également dans la fusion. En effet, le profil d'expression des protéines de ces jonctions est modifié au cours de la

différenciation des CTVs. Dans le cas de l'**E-cadhérine**, qui est exprimée dans les CTVs, son expression diminue au cours de la syncytialisation (Coutifarís *et al.*, 1991; Kokkinos *et al.*, 2010).

Une autre famille de protéines de jonction, les lectines, est aussi impliquée dans le processus de fusion cellulaire des CTVs. La **galectine-1** est une protéine membranaire impliquée dans la régulation de l'inflammation. Plusieurs études suggèrent que la galectine-1 est impliquée dans la différenciation trophoblastique. En effet, une étude de 2010 montre que la galectine-1 favorise la fusion des CTVs *in vitro* (Fischer *et al.*, 2010). De plus, plusieurs études décrivent une baisse de l'expression de la galectine-1 dans des placentas de grossesses pathologiques telles que les fausses couches à répétitions (Ramhorst *et al.*, 2012) et le diabète gestationnel (Blois *et al.*, 2014).

Par ailleurs, il semble qu'une autre structure membranaire, la cavéole, soit impliquée dans la formation du ST. Plus précisément, la **cavéoline-1**, une protéine constitutive des cavéoles, au sein des radeaux lipidiques membranaires, est exprimée spécifiquement dans les CTVs humains et est absente dans le ST. De plus, l'invalidation de la cavéoline-1 par ARN interférents induit la syncytialisation des cellules BeWo, montrant ainsi que cette protéine est un nouvel élément impliqué dans la fusion du ST humain (Linton *et al.*, 2003; Rashid-Doubell *et al.*, 2007).

b. La différenciation biochimique

La différenciation biochimique des CTVs est principalement associée à la synthèse hormonale.

Parmi ces hormones, on citera l'hCG et la leptine, qui sont produites par les cellules trophoblastiques, et plus spécifiquement, par le ST. De plus, l'hCG stimule la production de

leptine, qui stimule la synthèse d'hCG en retour. L'effet combiné de ces deux hormones conduit à une amplification du processus de syncytialisation.

Ces deux hormones constituent donc des marqueurs de la différenciation biochimique du ST (Lunghi *et al.*, 2007; Maymó *et al.*, 2011; Shi *et al.*, 1993; Weedon-Fekjær and Taskén, 2012).

c. CTV et apoptose différenciante

Le placenta est un organe en constant développement. Après une phase de prolifération et de différenciation cellulaire, les cellules trophoblastiques vieillissantes sont sélectivement évacuées et remplacées par des cellules plus jeunes. Il apparaît que **l'apoptose joue un rôle actif dans la différenciation des CTVs**. Les CTVs assurent le renouvellement de la couche la plus externe des villosités, le ST. Ils prolifèrent et fusionnent avec le ST, qui lui-même évacue les noyaux condensés les plus âgés dans la circulation maternelle sous forme de **fragments syncytiaux** (Figure 7).

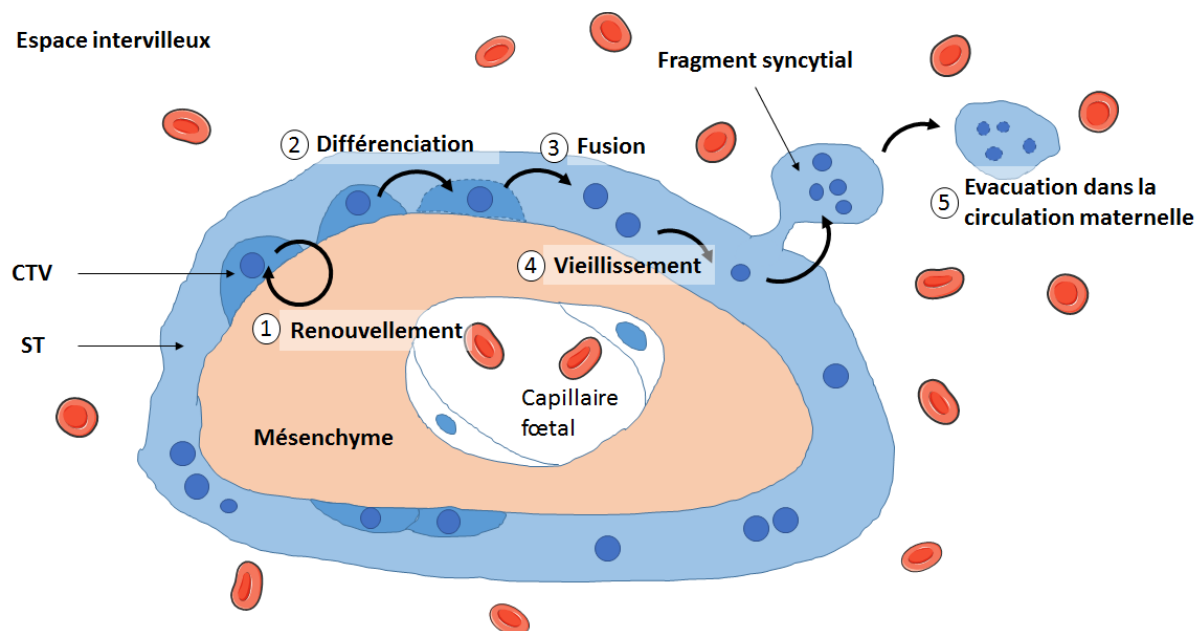


Figure 7 : Représentation schématique du renouvellement du ST. D'après (Carter, 2008).

L'apoptose ou mort cellulaire programmée, est un processus actif qui permet de supprimer les cellules superflues et non-fonctionnelles, sans induire de réaction inflammatoire. L'apoptose peut être activée par deux voies. La **voie intrinsèque**, ou voie mitochondriale, et la **voie extrinsèque**, ou voie des récepteurs de mort. Dans les deux cas, l'activation des voies conduit à l'activation d'enzymes spécifiques appelées caspases. Les caspases sont une famille de protéases à cystéines qui clivent de nombreuses protéines vitales et déclenchent la cascade apoptotique. On distingue les **caspases initiatrices** (Caspases 8 et 9) des **caspases effectrices** (Caspases 3, 6 et 7). Les caspases initiatrices activent par clivage les caspases effectrices. L'activation des caspases effectrices conduit à la dégradation de nombreuses cibles cellulaires et la condensation du noyau, puis à la fragmentation de la cellule en corps apoptotiques.

Il faut noter que toutes les caspases ne sont pas impliquées dans le processus apoptotique. Ainsi, les caspases 1, 4, 5 et 12 sont impliquées dans la réponse inflammatoire et les caspases 2 et 10 n'ont pas de rôles très définis (Philchenkov, 2004). Enfin, la caspase 14 est exclusivement exprimée dans les cellules de type épithélial. Elle est particulièrement exprimée dans les kératinocytes où elle contrôle la différenciation cellulaire (Denecker *et al.*, 2008).

Des études morphologiques du trophoblaste villositéux révèlent la présence de noyaux apoptotiques dans des CTVs issus de placentas de grossesses normales. Une étude menée en 1998 par Toki *et al.* a décrit une forte **co-expression du facteur anti-apoptotique Bcl-2** (B cell lymphoma-2) **et du facteur pro-apoptotique p21 dans le trophoblaste**, et plus fortement dans le ST. Cette étude suggéra que les facteurs habituellement impliqués dans la cascade apoptotique puissent intervenir dans la différenciation du ST. Cette théorie fut confirmée par plusieurs travaux, et plus particulièrement par l'équipe de Huppertz *et al.* Il semble que, au

cours de la différenciation du ST, la cascade apoptotique soit activée et participe activement au processus de différenciation.

En effet, l'inhibition de la caspase initiateur 8 à l'aide d'un inhibiteur spécifique supprime la fusion des CTVs humains (Black *et al.*, 2004). De même, l'inhibition de l'externalisation des phosphatidyl-sérines à l'aide d'un anticorps spécifique supprime la fusion des CTVs de placenta de 1^{er} trimestre (Das *et al.*, 2004). La caspase 14 est également impliquée dans la régulation de la différenciation trophoblastique. Son invalidation par ARN interférent dans un modèle de lignée choriocarcinomeuse humaine BeWo augmente l'activation transcriptionnelle du facteur de transcription pro-différenciant **GCM1 (Glial cell missing factor 1)**, et favorise la fusion des cellules BeWo (Wu *et al.*, 2013).

La phase de différenciation du ST correspondrait donc à une phase d'apoptose différenciante impliquant les caspases initiateurs et les facteurs anti-apoptotiques.

d. Facteurs régulant la fusion trophoblastique.

- **Les hormones stéroïdes**

Les **œstrogènes** sont synthétisés par le ST et semblent avoir une action autocrine positive sur la différenciation des CTVs en ST. En effet, ils stimulent leur propre production en augmentant l'expression de l'aromatase P450 dans les cellules JEG3 (Kumar *et al.*, 2009; Pepe *et al.*, 1999). Ils exercent également un effet positif sur les marqueurs de la différenciation biochimique tels que la leptine et l'hCG.

- **L'hCG**

L'hCG joue un rôle majeur dans la différenciation des CTVs. Après liaison sur ses récepteurs spécifiques, l'hCG active la **voie de l'AMPc** (Adenosine mono-phosphate cyclique). L'activation

de cette voie conduit à la translocation nucléaire du facteur de transcription CREB (cAMP response element - binding protein) et à l'expression de gènes cibles de la différenciation trophoblastique, dont celui de l'hCG elle-même. Ainsi, la voie de l'AMPc est considérée comme la voie majeure de la différenciation trophoblastique. La voie de l'AMPc active directement celle du facteur de transcription **GCM1** (Chang *et al.*, 2011). L'expression de GCM1 est indispensable à la différenciation trophoblastique (Baczyk *et al.*, 2009). Il active l'expression de nombreux marqueurs de la différenciation, dont les syncytines 1 et 2 (Liang *et al.*, 2010). Les facteurs de transcription **Sp-1** (specificity protein-1) et **AP-2** (activating protein-2) favorisent également la production d'hCG, et sont induits par la voie de l'AMPc (Knöfler *et al.*, 2004). Enfin, le facteur de transcription **NR2F2** (nuclear receptor sub-family 2 member 2) semble également contrôler la différenciation trophoblastique. En effet, l'inactivation par ARN interférents de NR2F2 diminue l'expression de l'hPL et de la syncytine dans les ST humains *in vitro*. L'effet prodifférenciant de NR2F2 est médié par le facteur AP-2, dont l'expression dans le ST humain est augmentée par NR2F2 (Hubert *et al.*, 2010).

- Les facteurs de croissance

Les facteurs **EGF**, **IGF-I** et **IGF-II** favorisent la différenciation des CTVs et le maintien du ST dans des modèles d'explants placentaires, grâce à leurs effets anti-apoptotiques (Forbes *et al.*, 2008; Humphrey *et al.*, 2008). De plus, l'EGF favorise la différenciation des CTVs en stimulant l'expression de l'hCG (Dakour *et al.*, 1999). Leur action est médiée par l'activation des voies de la PKC et des MAP kinases (Forbes *et al.*, 2009). Les facteurs **GM-CSF** (granulocyte macrophage colony stimulating factor) et **CSF-R** (colony stimulating factor receptor) favorisent également la fusion des CTVs issus de placentas humains de 3^{ème} trimestre de grossesse

(Morrish *et al.*, 1998). En revanche, les facteurs **TGF β 1 et 3** diminuent la synthèse d'hCG et régulent négativement la différenciation trophoblastique (Getsios *et al.*, 2000).

- Les cytokines

Les cytokines sont des molécules de signalisation produites par un grand nombre de types cellulaires différents, à la différence des hormones, synthétisées par des types cellulaires spécifiques. L'**adiponectine** est une adipokine récemment décrite comme un facteur positif de la différenciation morphologique et biochimique des cellules BeWo et des CTVs issus de placentas de 1^{er} trimestre en culture primaire (Benaitreau *et al.*, 2010). Son rôle potentiel dans le développement placentaire est renforcé par le fait que les cellules placentaires expriment les récepteurs à l'adiponectine AdipoR1 et AdipoR2, et sont donc des cellules cibles de cette adipokine (Aye *et al.*, 2013). L'**IL-1** (interleukine-1) semble également jouer un rôle positif dans la différenciation des CTVs en augmentant la production d'hCG par le ST en culture primaire (Yagel *et al.*, 1989). Enfin, la **leptine**, considérée comme une hormone placentaire, exerce des effets autocrines sur le trophoblaste en stimulant la production d'hCG dans des cultures primaires de placenta (Cameo *et al.*, 2003; Islami *et al.*, 2003). Au contraire, le **TNF- α** (tumour necrosis factor- α) a un effet anti-différenciant dans les CTVs humains en culture primaire (Leisser *et al.*, 2006). Le **LIF** (leukemia inhibitory factor) est aussi une cytokine capable de diminuer la différenciation des CTVs en ST *in vitro* (Alsat and Evain-Brion, 1999). Une étude montre que les effets anti-différenciants du LIF sont médiés par les facteurs de transcription **STAT-1** et **STAT-3** (signal transducer and activator of transcription-1 et 3) dans les cellules BeWo (Leduc *et al.*, 2012).

- Les facteurs de transcriptions

Plusieurs facteurs de transcription ont été décrits comme des acteurs clés impliqués dans le programme de différenciation trophoblastique. Par exemple, le facteur **TEF5** (transcriptional enhancer factor-5) est fortement exprimé dans le placenta humain et la lignée trophoblastique JEG-3. Son activation transcriptionnelle induit la synthèse d'hCG dans les cellules JEG-3 (Peng *et al.*, 2004).

Les gènes homéobox sont également très impliqués dans la régulation de la syncytialisation des CTVs. **DLX3** et **TGIF-1** constituent deux gènes homéobox qui favorisent la différenciation et la fusion des CTVs. Plus précisément, il a été montré que l'expression de **DLX3** (distalless homeobox 3) et **TGIF-1** (transforming growth factor- β -induced factor) augmente au cours de la différenciation des CTVs humains *in vitro*. De plus, la surexpression de **DLX3** ou l'inactivation par ARN interférent du facteur **TGIF-1** modulent l'expression de la syncytine et de l'hCG dans les cellules BeWo (Chui *et al.*, 2012; Pathirage *et al.*, 2013). A l'inverse, le facteur **HLX** (H2.0-like homeobox) maintient le stade indifférencié et prolifératif des cytotrophoblastes. En effet, son inactivation par ARN interférent diminue la prolifération des cellules HTR-8/SVneo (Rajaraman *et al.*, 2007).

De nombreux travaux montrent que le facteur de transcription **PPAR γ** (Peroxisome proliferator activator receptor- γ) est un facteur régulateur de la différenciation trophoblastique. **PPAR γ** est hautement exprimé dans le tissu adipeux blanc et brun. Il joue un rôle critique dans la différenciation des adipocytes et dans le métabolisme des lipides (Tontonoz *et al.*, 1994). Les souris **PPAR γ -/-** présentent un défaut de différenciation trophoblastique et de vascularisation du placenta et décèdent précocement au stade embryonnaire (Barak *et al.*, 1999; Kubota *et al.*, 1999). En 2010, l'équipe de Desvergne a construit un KO conditionnel de **PPAR γ** spécifiquement dans l'épiblaste. Ces souris **PPAR γ -/-**

dans l'embryon sont parfaitement viables. Ceci signifie que la dysfonction placentaire induite par l'absence de PPAR γ est la seule cause du décès au stade embryonnaire. De plus, le traitement des souris gestantes avec un agoniste spécifique, la rosiglitazone, induit un retard de croissance et des dysfonctions placentaires (Nadra *et al.*, 2010). Les études *in vitro* et *ex vivo* réalisées chez l'Homme montrent que l'expression de PPAR γ est limitée aux cellules trophoblastiques tandis que son partenaire d'hétérodimérisation RXR (récepteur de l'acide 9-cis rétinoïque) est exprimé de manière ubiquitaire dans le placenta humain (Fournier *et al.*, 2007). L'activation de PPAR γ par la rosiglitazone induit une augmentation de la sécrétion d'hCG ainsi que l'expression d'hPL, d'hPGH et de leptine dans des cultures primaires de CTVs issus de placenta de 3^{ème} trimestre (Tarrade *et al.*, 2001b). Cette même étude démontre que l'hétérodimère RXR-PPAR γ se lie directement sur le promoteur de l'hCG. Une autre étude a confirmé le rôle positif de PPAR γ dans l'expression de l'hCG dans les CTVs de 1^{er} trimestre de grossesse et son rôle négatif chez les CTEVs (Handschuh *et al.*, 2009). De plus, l'activation de PPAR γ , par deux autres agonistes spécifiques, régule positivement l'expression de la syncytine 1 dans les cellules BeWo (Ruebner *et al.*, 2012). Ces résultats suggèrent que **PPAR γ exerce un effet pro-différenciant dans les CTVs.**

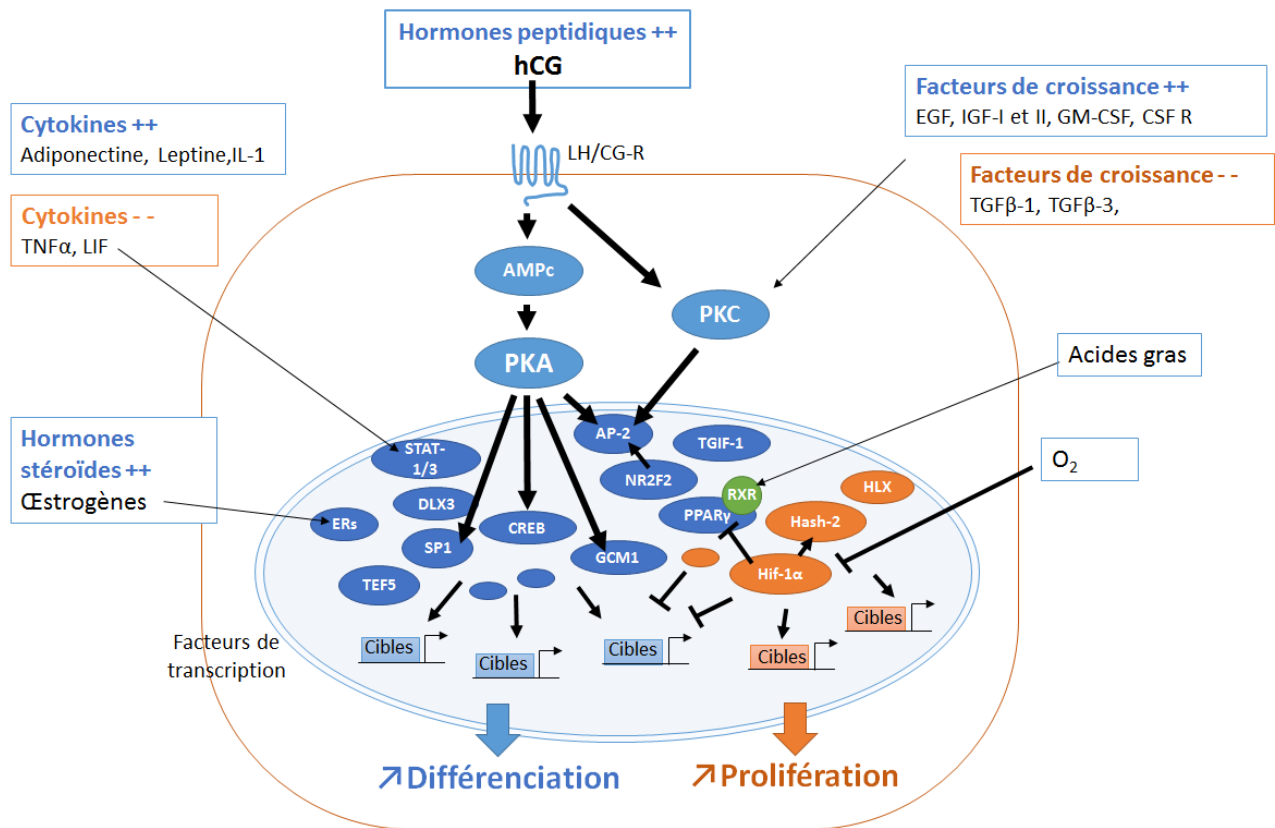


Figure 8 : Facteurs régulateurs de la syncytialisation du trophoblaste humain.

IL-1 : interleukine-1, TNF α : tumour necrosis factor- α , LIF : leukemia inhibitory factor, EGF: epithelial growth factor, IGF: insulin growth factor, GM-CSF: granulocyte macrophage colony stimulating factor, CSF-R: colony stimulating factor receptor, TGF β : transforming growth factor- β , AMPc: adenosine mono phosphate cyclic, PKA: phosphokinase A, PKC: Protéine kinase C, CREB: cAMP response element - binding protein, GCM1: glial cell missing factor-1, ERs: estrogen receptors, AP-2: activating protein-2, TEF5: transcriptional enhancer factor-5, DLX3: distaless 3, TGIF-1: transforming growth factor- β -induced factor, PPAR γ : peroxisome proliferator-activated receptor- γ , HLX: H2.0 like homeobox, Hash-2: Human Achaete-Scute Homologue-2, Hif-1 α : hypoxia inducible factor-1 α , STAT-1/3: signal transducer and activator of transcription-1/3, hCG: hormone chorionique gonadotrope humaine, Sp-1: specificity protein-1, NR2F2: nuclear receptor sub-family 2 member 2.

2) La différenciation du cytotrophoblaste extra-villeux

Le placenta est un modèle unique d'invasion pseudo-tumorale contrôlée, limitée dans le temps et l'espace. Chez les primates supérieurs, cette invasion est particulièrement profonde, puisqu'elle atteint le tiers supérieur du muscle utérin. L'invasion trophoblastique exige une digestion du tissu endométrial maternel.

L'invasion et l'ancrage du placenta dans l'utérus sont assurés par les CTEVs. Les trophoblastes se différencient à partir des colonnes de cellules à la base de la villosité crampon en CTEVs invasifs. L'acquisition de leurs **capacités invasives et migratoires** est associée à la perte de leur polarité cellulaire, à une modification de leur profil de molécules d'adhérence et d'intégrines, et à la sécrétion d'enzymes capables de digérer la MEC (Figure 8).

Le programme de différenciation se poursuit et les CTEVs invasifs peuvent se différencier soit en **cellules géantes**, soit en **CTEVs endovasculaires**.

Le rôle des **cellules géantes** n'est pas encore bien connu chez l'Homme. L'origine de leur polyploïdie et leur processus de différenciation ne sont pas encore décrits. Cependant, chez la souris, il existe des cellules géantes trophoblastiques dont le rôle majeur dans le développement placentaire et embryonnaire est bien décrit. Ces cellules dérivent du trophoctoderme, présentent une masse cytoplasmique importante et possèdent généralement un noyau polypléide résultant d'une endoréplication. Les cellules géantes murines ont une fonction endocrine et paracrine et agissent sur différentes cibles (Hu and Cross, 2010). Des recherches ont mis en évidence un rôle pro-angiogénique et vasodilatateur des cellules géantes murines (Hemberger, 2008). Mais ces cellules interviennent également dans l'implantation, la décidualisation et la modulation du système immunitaire maternel (Hu and Cross, 2010). Malgré le peu d'information actuelle, les cellules géantes humaines jouent

certainement un rôle important dans l'invasion trophoblastique et le développement placentaire. En effet, une surpopulation de cellules géantes a été décrite dans des placentas prééclampsiques (Stark *et al.*, 2014) ou présentant des retards de croissance intra-utérin (Spinillo *et al.*, 2012). En revanche, un déficit en cellules géantes a été décrit dans des cas de placentas *accreta* (Hannon *et al.*, 2012).

Les **CTEVs endovasculaires** participent au remodelage des artères spiralées utérines. Ils envahissent et remplacent progressivement les cellules endothéliales de ces artères, tandis que la tunique musculaire artérielle est dégradée. Comme décrit plus en détail dans la section I-A-4, ce remodelage confère une structure artérielle plus large et non contractile, ce qui diminue la pression du flux sanguin arrivant dans la chambre intervillieuse, tout en augmentant son débit. Ainsi, ce remodelage assure une augmentation de la durée et du volume des échanges entre le flux sanguin et la paroi syncytiale.

a. Les acteurs de l'invasion trophoblastiques

- **Molécules d'adhérence**

La différenciation progressive des CTEVs vers un phénotype invasif semble dépendante de l'acquisition et de la régulation spatio-temporelle des molécules d'adhérence. Ainsi, chaque phénotype de différenciation des CTEVs (invasif, cellule géante, endo-vasculaire) se traduit par l'expression de marqueurs d'adhérence spécifiques.

Les **cadhérines** sont des protéines de jonction cellule-cellule dépendantes du calcium. Lorsque des cellules s'individualisent d'un tissu, elles doivent exprimer un type de cadhérines différent de leur tissu d'origine. Ainsi, les CTEVs prolifératifs, qui conservent un aspect pseudo-épithélial, expriment l'**E-cadhérine** (epithelial cadherin). A l'inverse, lors de l'acquisition du phénotype invasif, les CTEVs deviennent interstitiels et expriment alors les cadhérines 6 ou

11, et la **VE-cadhérine** (vascular endothelial cadherin) (Zhou *et al.*, 1997). Les CTEVs invasifs expriment également la **MCAM** (melanoma cell adhesion molecule), une molécule d'adhésion spécifique des cellules invasives (Shih and Kurman, 1996).

De même, du fait de leur structure jointive, les cellules épithéliales possèdent des jonctions communicantes telles que les canaux composés par la **connexine 40**, dont l'expression est spécifique des CTEVs situés dans la partie supérieure de la colonne trophoblastique (Winterhager *et al.*, 2000).

- **Intégrines**

Les intégrines jouent un rôle primordial dans la migration cellulaire. En effet, les CTEVs prolifératifs, en contact avec la lame basale riche en laminine, expriment les intégrines récepteurs **$\alpha 3\beta 1$** , **$\alpha 6\beta 4$** , et **$\alpha v\beta 6$** (Damsky *et al.*, 1992; Zhou *et al.*, 1997). Le profil d'expression des intégrines est modifié au cours de la différenciation des CTEVs. Ainsi, Les CTEVs de la colonne distale trophoblastique expriment l'intégrine **$\alpha 5\beta 1$** , qui est associée à la motilité cellulaire et à la transition vers un phénotype mésenchymateux (Aplin *et al.*, 1999). Ce changement de profil d'expression se poursuit plus profondément dans la décidue, où les CTEVs invasifs expriment de nouveaux hétérodimères d'intégrines, tels que les intégrines **$\alpha v\beta 1$** , **$\alpha v\beta 3$** , et **$\alpha 1\beta 1$** (Damsky *et al.*, 1992; Zhou *et al.*, 1997). Enfin, les CTEVs endovasculaires expriment un profil similaire à celui des CTEVs invasifs, avec un hétérodimère supplémentaire **$\alpha 4\beta 1$** (Merviel *et al.*, 2001).

- **Protéases**

Les CTEVs produisent des **métalloprotéases matricielles (MMPs)** qui sont des endopeptidases zinc dépendantes impliquées dans la dégradation des protéines de la MEC. Chez l'Homme, il existe 22 MMPs, classées en différents groupes : les gélatinases, les collagénases, les

stromélysines, et les MMPs membranaires (MT-MMP). Comme nous l'avons vu précédemment dans la régulation de l'invasion par l'endomètre maternel, il existe des inhibiteurs spécifiques de l'activité des MMPs. Il s'agit des **TIMPs** (tissue inhibitors of matrix metalloproteases) et des **PAIs** (plasminogen activators inhibitors). Les protéases et leurs inhibiteurs réalisent ainsi un mécanisme d'autorégulation par lequel une protéolyse excessive peut être empêchée (Massova *et al.*, 1998). Ainsi, les CTEVS prolifératifs expriment un nombre réduit de MMPs (gélatinase MMP-9, MMP membranaire 1, et stromélysine MMP-3) et d'inhibiteurs (TIMPs 1 et 2). Au contraire, les CTEVs invasifs expriment un éventail de MMPs supplémentaires (collagénases 1, 2 et 7, et MT-MMP 2), associé à l'expression de TIMP-3 (Huppertz *et al.*, 1998; Yudate *et al.*, 1996).

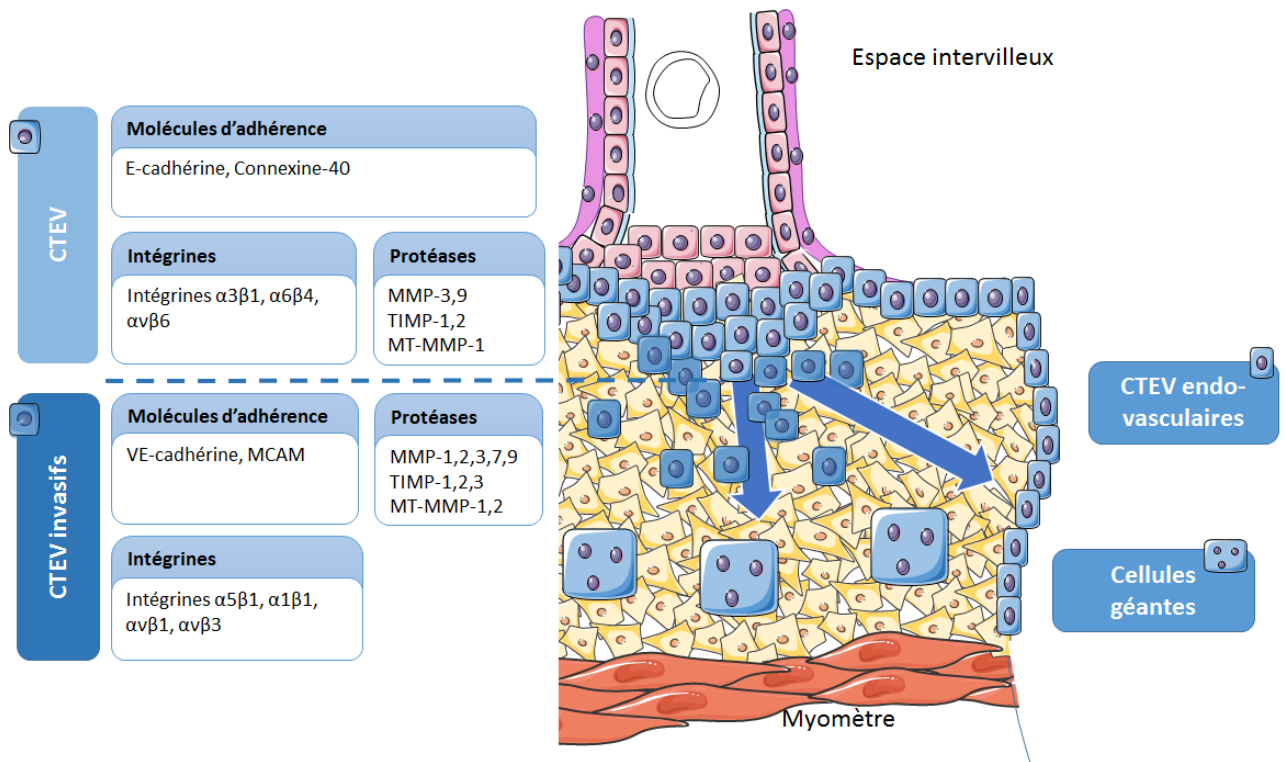


Figure 9 : Les marqueurs de la différenciation du CTEV.

MMP: métalloprotéase, TIMP: tissues inhibitors of metalloproteases, MT-MMP: membrane type-métalloprotéase, MCAM: melanoma cell adhesion molecule, VE-cadhérine: cadhérine de l'endothélium vasculaire, E-cadhérine : cadhérine épithéliale.

b. Facteurs régulant l'invasion trophoblastique

La régulation du processus invasif intervient principalement sur la balance MMPs/TIMPs.

- **L'hCG**

Le rôle de **l'hCG** sur le contrôle de l'invasion trophoblastique a initialement présenté des contradictions. L'hCG exerce des effets pro-invasifs dans les cellules humaines de la lignée HTR-8/SVneo, en augmentant la production et l'activité des MMP2 et MMP9. Cependant, l'hCG ne semblait pas moduler l'invasion des CTEVs humains *in vitro* (Guzeloglu-Kayisli *et al.*, 2009). Par la suite, des études approfondies ont montré que les incohérences observées provenaient de l'existence de différentes formes glycosylées de l'hCG. Ainsi, la forme hyperglycosylée de l'hCG, produite par les CTEVs, a des effets pro-invasifs dans des cultures primaires de trophoblastes. En revanche, la forme peu glycosylée produite par le ST n'a pas d'effet pro-invasif dans les cultures primaires de CTEVs de premier trimestre (Handschuh *et al.*, 2007). Par ailleurs, une récente étude a montré que les deux formes d'hCG (hCG et l'hCG-H) augmentent l'invasion des cellules JEG-3, indépendamment de la présence des récepteurs LH/CG. Ce résultat suggère que ce modèle de lignée soit moins sélectif que le modèle de culture primaire (Lee *et al.*, 2013). L'hCG exerce également des effets dans les cellules endométriales. Elle favorise l'expression et l'activité des MMPs, et réduit l'expression des TIMPs dans des cultures primaires de cellules endométriales humaines, favorisant ainsi l'invasion des cellules HTR-8/SVneo dans des modèles de co-culture (Tapia-Pizarro *et al.*, 2013). L'effet de l'hCG est principalement médié par son récepteur LH/CG-R et l'activation de la **voie de l'AMPc**. Celle-ci conduit à l'activation de plusieurs facteurs de transcription tels que **CREB** et **GCM1** (Baczyk *et al.*, 2009).

- **Les hormones stéroïdiennes**

La **progestérone** régule négativement le processus invasif en diminuant l'activité des MMPs 2 et 9 et la prolifération des cellules HTR-8/SVneo (Chen *et al.*, 2011; Halasz and Szekeres-Bartho, 2013). Son action semble en partie médiée par le peptide PIBF (progesterone-induced blocking factor) qui diminue l'expression de la leptine dont les effets pro-invasifs sont bien décrits (Miko *et al.*, 2011).

Les **glucocorticoïdes** régulent également l'invasion trophoblastique. Ainsi, dans la lignée cellulaire BeWo, le cortisol favorise l'invasion trophoblastique en augmentant l'activité de la MMP2 (Michael and Papageorgiou, 2008; Morrish *et al.*, 1998).

- Les cytokines

Les cytokines interviennent dans la régulation de l'invasion trophoblastique en activant **la voie de transduction JAK-STAT**.

Le **LIF** est une glycoprotéine produite par l'endomètre et le placenta humain avec une expression maximale au moment de l'implantation (Kojima *et al.*, 1994). Plusieurs études ont montré que le LIF favorise l'adhésion du blastocyste, tout en régulant le processus d'invasion chez l'Homme. Plus précisément, la suppression du gène LIF chez la souris entraîne une stérilité qui peut être corrigée par un apport exogène de LIF, ce qui renforce l'importance de cette cytokine dans les premières étapes de l'implantation (Fitzgerald *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2014; Stewart *et al.*, 1992). De plus, *in vitro*, l'addition de LIF augmente l'invasion des cellules HTR-8/SVneo et diminue l'expression des TIMPs 1, 2 et 3 (Suman *et al.*, 2013). Enfin, il a été montré dans les cellules de la lignée trophoblastique humaine JEG-3, que le LIF exerce un effet pro-invasif via l'activation du facteur de transcription **STAT3** (Signal transducer and activator of transcription 3) (Suman and Gupta, 2014).

L'**adiponectine** participe également au contrôle de l'invasion. Une étude menée au laboratoire sur la lignée cellulaire HTR-8/SVneo et sur des CTEVs humains montre que l'adiponectine favorise l'invasion cellulaire en stimulant l'activité des MMPs 2 et 9 et en inhibant l'expression de TIMP2 (Benaitreau *et al.*, 2010).

L'**angiotensine-II** régule négativement l'invasion des CTEVs dans les modèles d'explants de placenta humain (Araki-Taguchi *et al.*, 2008).

Le **facteur pré-implantatoire ou PIF** est un peptide sécrété très précocement par le blastocyste. Le PIF est également présent dans le trophoblaste, et plus spécifiquement dans les CTEVs. Notre laboratoire a récemment mis en évidence que le PIF exerce des effets pro-invasifs en modulant spécifiquement la balance MMP9/TIMP1, ainsi que le profil d'expression des intégrines αv et $\alpha 1$ (Moindjie *et al.*, 2014).

La **leptine** favorise également l'invasion trophoblastique. Les études menées chez la souris montrent que la leptine favorise l'invasion des trophoblastes de souris *in vitro* (Schulz and Widmaier, 2004). Ce résultat a été confirmé par la même équipe chez la chauve-souris, dans lesquelles la suppression de la production de leptine endogène dans les trophoblastes entraîne un défaut d'invasion cellulaire (Schulz *et al.*, 2007). Les effets de la leptine sont médiés par la régulation des MMPs. Chez la souris, l'équipe de Schulz a montré que l'effet pro-invasif de la leptine dépendait des MMPs (Schulz and Widmaier, 2004). Chez l'Homme, la leptine augmente l'expression des MMP2 et MMP9 (Castellucci *et al.*, 2000). Une étude très récente réalisée sur des cellules HTR-8/SVneo, montre que l'inactivation par ARN interférents de la MMP14 supprime les effets pro-invasifs de la leptine. Enfin, cet effet semble impliquer une communication entre les voies Notch1 et PI3K-MAPK dans les cellules trophoblastiques (Wang *et al.*, 2014).

- **Les facteurs de croissance**

Les facteurs de croissances interviennent également dans le contrôle de l'invasion trophoblastique. Leurs effets sont principalement médiés par la **voie de la PKC** et le facteur de transcription **AP-2**.

Les **interleukines** semblent jouer un rôle dans l'invasion et notamment l'IL-1. En effet, l'inactivation de l'IL-1 dans les cellules endométriales murines empêche l'implantation de l'embryon. L'IL-1 stimule également la migration des CTEVs en augmentant l'activité des MMPs (Fontana *et al.*, 2010; Prutsch *et al.*, 2012). De plus, l'IL-1 et l'IL-6 sont sous-exprimées dans l'endomètre de femmes souffrant de fausses couches à répétition (Jasper *et al.*, 2007).

Les membres de la **famille des TGFβ**, (TGFβ-1,2,3 et 4) sont exprimés à un niveau maximum lors de l'implantation. Leur invalidation chez le rat bloque l'implantation, ce qui suggère que leur rôle est important dans la régulation de l'invasion trophoblastique (Guzeloglu-Kayisli *et al.*, 2009). Ainsi, il a été montré que TGFβ1 diminue l'invasion trophoblastique et inhibe l'apparition de la VE-cadhérine dans des CTEVs humains en culture primaire (Cheng *et al.*, 2013). De même, TGFβ-3 réduit l'invasion des cultures primaires de CTEVs (Zhao *et al.*, 2012). Notamment, l'inhibition du TGFβ-3 par des anticorps spécifiques favorise l'invasion des CTEVs dans des modèles d'explants de placenta de 3^{ème} trimestre (Caniggia *et al.*, 1999). De plus, il a été démontré que l'effet anti-invasif des TGFβ passait par l'activation du facteur de transcription **Id-2** (inhibitor of DNA binding-2) (Gregory, 2011). Une autre étude confirme l'implication du facteur nucléaire Id-2 dans le contrôle de l'invasion des cellules de la lignée trophoblastique humaine JAR et des CTEVs (Townley-Tilson *et al.*, 2014).

Enfin, **Nodal**, un autre membre de la famille TGFβ, réprime également l'invasion trophoblastique en augmentant l'expression de TIMP1 et en diminuant l'expression des

MMP2 et 9 dans les cellules HTR-8/SVneo et dans des explants de placentas humains de 1^{er} trimestre (Nadeem *et al.*, 2011).

La **famille des EGF** a un rôle critique dans l'invasion, la différenciation et la prolifération du trophoblaste (Bass *et al.*, 1994; Li and Zhuang, 1997). Plus précisément, l'EGF favorise l'invasion des cultures primaires de CTEVs humains en activant le facteur de transcription pro-différenciant AP-2, et en favorisant la synthèse de la MMP 2 (Biadasiewicz *et al.*, 2011). Enfin, le facteur **VEGF** favorise la migration des CTEVs en culture primaire (Lash *et al.*, 2003).

Le facteur **IGF-I** et **IGF-II** intervient également dans l'invasion trophoblastique. Plus précisément, IGF-I et IGF-II stimulent l'invasion des CTEVs en modulant l'expression de l'intégrine $\alpha 5\beta 1$ (Hamilton *et al.*, 1998). D'autres études ont démontré qu'IGF-II favorisait l'invasion via l'activation de son récepteur spécifique RIGF-II et la voie des MAP kinases (McKinnon *et al.*, 2001). La durée de vie et la disponibilité des facteurs de croissance IGF I et II sont contrôlées par leur association avec les protéines IGFBP. Ce complexe IGF/IGFBP peut être clivé par des protéases telles que la **PAPP-A** (protéine plasmatique placentaire-A) entraînant la libération d'une grande quantité d'IGF. En effet, une étude effectuée *in vitro* sur des CTEVs humains montre que l'effet positif d'IGF-II sur la migration est potentialisé lors de sa liaison à **IGFBP-1**. (Irving and Lala, 1995; Pollheimer and Knöfler, 2005). Cependant, une étude très récente montre, dans les cellules HTR-8/SVneo, que l'effet pro-invasif d'IGF-I et d'IGF-II est réprimé en présence des protéines de sous-types IGFBP-4 et 5 (Crosley *et al.*, 2014).

EG-VEGF (endocrine gland-derived vascular endothelial growth factor) est également impliqué dans le contrôle du processus invasif. Dans des modèles cellulaires (HTR-8/SVneo) et d'explants de placenta humain, EG-VEGF inhibe l'invasion trophoblastique et la production de

MMP-2 et 9. En revanche, il favorise la prolifération trophoblastique et l'angiogenèse. De plus, EG-VEGF est sur-exprimé dans le sérum maternel au cours de grossesses pathologiques telles que la prééclampsie, et/ou les petits poids de naissance, ce qui souligne son implication dans les mécanismes de contrôle de l'implantation (Brouillet *et al.*, 2013; Hoffmann *et al.*, 2009).

Le facteur HGF (hepatocyte growth factor) favorise la migration des cellules HTR-8/SVneo par l'activation du facteur de transcription l'homéogène **HLX** (Liu *et al.*, 2012).

- **Les facteurs de transcription**

De nombreux facteurs de transcription ont été décrits dans le contrôle de la différenciation et de l'invasion des CTEVs.

Le facteur de transcription **RPBJk** (recombination signal binding protein for immunoglobulin kappa J), dont l'activation dépend de la voie Notch, inhibe l'invasion et la prolifération des CTEVs dans des modèles d'explants de placentas humains de 1^{er} trimestre (Velicky *et al.*, 2014 (Haider *et al.*, 2014)).

Le facteur de transcription **TCF4** (Wnt dependent transcription factor-4) est activé par la voie Wnt (wingless). La liaison de Wnt sur son récepteur membranaire Frizzled, induit l'activation de la β -caténine et de TCF4. Une récente étude montre la présence du facteur TCF4 et de son coactivateur la β -caténine dans les CTEVs invasifs sur des coupes de placentas humains de 1^{er} trimestre. De plus, l'inactivation de l'expression de TCF4 par ARN interférents dans des CTEVs issus de placentas humains de 1^{er} trimestre réduit l'expression des intégrines $\alpha 1$ et $\alpha 5$, suggérant que cette voie est également impliquée dans les effets pro-invasifs de TCF4 (Meinhardt *et al.*, 2014).

Parmi les facteurs de transcription connus pour réguler l'invasion, plusieurs d'entre eux n'ont pas encore été rattachés à des voies de signalisation. Il s'agit du facteur **IKx** (Ikaros isoform x). Une étude décrit son expression dans les CTEVs sur des coupes de placentas humains de 1^{er} trimestre et montre que l'inactivation de son expression dans les cellules HTR-8/SVneo par ARN interférents diminue la migration cellulaire (Yamamoto *et al.*, 2005). L'homéogène **DLX4** (distaless homeobox 4) semble aussi impliqué dans la différenciation des CTEVs. En effet, l'inactivation de DLX4 par ARN interférents, diminue les capacités invasives des cellules JEG-3 (Sun *et al.*, 2011, p. 4).

Le facteur **PPAR γ** est décrit comme un facteur inhibiteur de l'invasion trophoblastique. Une première étude a montré que l'addition d'un antagoniste spécifique de PPAR γ augmente la migration et l'invasion des CTEVs issus de placentas humains de 1^{er} trimestre (Tarrade *et al.*, 2001b). Une autre étude a montré que PPAR γ réprime l'expression de l'hCG dans le même modèle cellulaire (Handsuh *et al.*, 2009). Ces résultats suggèrent que l'effet anti-invasif de PPAR γ serait en partie médié par la régulation négative de l'hCG, dont certaines formes sont pro-invasives (Handsuh *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2013).

Enfin, le facteur de transcription **STOX1** (storkhead box-1) réprime également l'invasion trophoblastique. En effet, une étude montre que son inactivation par ARN interférents augmente fortement l'invasion des cellules de la lignée trophoblastique humaine SGHPL-5 et des CTEVs dans des explants placentaires de 1^{er} trimestre (Dijk *et al.*, 2010).

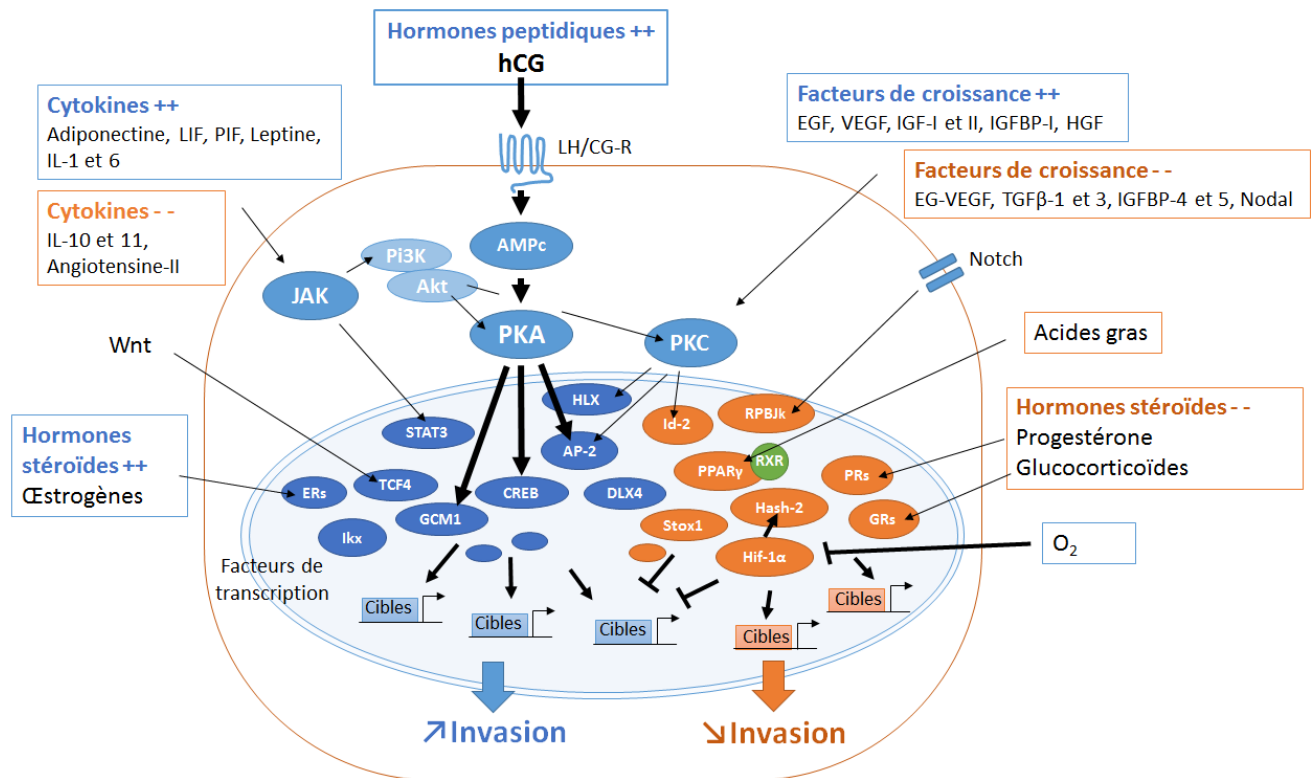


Figure 10 : Facteurs régulateurs de l'invasion du trophoblaste humain.

LIF : leukemia inhibitory factor, IL : interleukine, PIF : facteur pré-implantatoire, EGF : epithelial growth factor, VEGF : vascular endothelial growth factor, IGF-I and II: insulin growth factor-I and II, IGFBP: insulin growth factor-binding protein, EG-VEGF: endocrine gland-derived vascular endothelial growth factor, TGFβ: transforming growth factor-β, JAK: janus kinase, AMPc: adenosine mono phosphate cyclic, PKA: phosphokinase A, PKC: Protéine kinase C, CREB: cAMP response element - binding protein, GCM1: glial cell missing factor-1, ERs: estrogen receptors, AP-2: activating protein-2, DLX4: distaless 4, Ikx: Ikaros isoform x, STAT3: Signal transducer and activator of transcription 3, Wnt: wiggless, PPARγ: peroxisome proliferator-activated receptor-γ, HLX: H2.0 like homeobox, HGF: hepatocyte growth factor, Hash-2: Human Achaete-Scute Homologue-2, HIF-1α: hyoxia inducible factor-1α, Id-2: inhibitor of DNA binding-2, PRs: récepteurs à la progestérone, GRs: récepteurs aux glucocorticoïdes, RPBjk: recombination signal-binding protein 1, Stox1: storkhead box-1, hCG: hormone chorionique gonadotrope humaine, TCF4: Wnt dependant transcription factor-4.

3) Rôle de l'oxygène dans la différenciation du trophoblaste

L'effet de l'oxygène est particulièrement central dans le développement du placenta car il est directement associé aux différentes phases du développement. Comme présenté dans le paragraphe I-A-5 de cette thèse, l'implantation et les premières étapes du développement placentaire se réalisent en condition **d'hypoxie relative**. L'hypoxie favorise la prolifération trophoblastique, alors que la normoxie favorise la différenciation cellulaire. Ce mécanisme est contrôlé par le facteur de transcription sensible à l'oxygène **HIF-1**. Ce facteur est constitué de deux sous-unités α et β , appelées HIF-1 α et HIF-1 β . HIF-1 β est présent et exprimé de façon constitutive. En revanche, HIF-1 α est sensible à la présence d'oxygène. En effet, **en situation normoxique, HIF-1 α est hydroxylé** par des prolines hydroxylases. La forme hydroxylée d'HIF-1 α est reconnue par l'ubiquitine ligase **VHL** (von Hippel–Lindau tumour suppressor protein), est polyubiquitinylée, puis adressée au protéasome et dégradée. En situation hypoxique, la diminution de la disponibilité en O₂ réduit l'hydroxylation d'HIF-1 α , qui est stabilisé et est capable de se dimériser avec HIF-1 β . Le dimère est alors en mesure de réguler l'expression de ses gènes cibles (*voir revue* (Palazon *et al.*, 2014)).

L'effet négatif d'HIF-1 α sur la différenciation des CTVs et des CTEVs est médiée en partie par l'activation du facteur anti-différenciant **Hash2** (Human Achaete-Scute Homologue-2)(Aplin, 2000; Tuuli *et al.*, 2011). De plus, il a été montré dans des trophoblastes murins, que le facteur HIF-1 α inhibe l'expression de **PPAR γ** , décrit comme un facteur anti-invasif et pro-différenciant (Tache *et al.*, 2013).

Enfin, il faut noter que le **niveau d'oxygène conditionne le profil d'expression des trophoblastes** et leur confère des propriétés particulières. En effet, les CTVs extraits de placentas de 1^{er} trimestre précoce (état hypoxique) et les CTVs extraits de placentas de 1^{er}

trimestre tardifs (état normoxique) sécrètent des quantités différentes d'hCG après mise en culture sous condition normoxique (21% d'O₂) (Cocquebert *et al.*, 2012). Ces résultats suggèrent que l'oxygène contrôle les programmes de différenciation trophoblastique.

II- Les pathologies de la grossesse

Les fausses couches spontanées, la prééclampsie, le retard de croissance intra-utérin et la prématurité sont des pathologies majeures de la grossesse et peuvent être à l'origine d'une mortalité fœtale et/ou maternelle. Elles trouvent leur origine dans des causes maternelles, et/ou fœtales, et/ou placentaires.

A- La prééclampsie (PE)

1) Définition de la PE

La **prééclampsie (PE)** est classiquement décrite comme un syndrome hypertensif associé à des dysfonctionnements rénaux apparaissant au cours du 2^{ème} trimestre de grossesse, après 18 semaines de grossesse. Selon les pays, cette pathologie touche entre 2 et 8% des grossesses. Plus de 60 000 décès par an dans le monde sont associés à la PE (Duley, 2009). Cette pathologie gravidique peut conduire à de graves complications telles que la prématurité sévère, la mortalité et la morbidité fœtale, les accidents maternels de type hématome rétroplacentaire, le HELLP syndrome (Hemolysis, Elevated Liver enzyme, Low Platelets) et l'éclampsie. Enfin, dans 25% des cas, la PE est associée à un retard de croissance intra-utérin.

Les deux principaux signes cliniques de la PE sont une hypertension supérieure à 140/90 mmHg et une protéinurie supérieure à 300mg/24h après 18 semaines de grossesse. Des œdèmes à développement rapide, une hyper-uricémie (>350 µmol/L), une baisse de la

thrombopénie ($<150\ 000/\text{mm}^3$) et une augmentation de l'activité sérique de l'alanine aminotransférase peuvent également apparaître au cours de la PE.

On parle de PE sévère lorsque l'hypertension et la protéinurie s'accroissent et que d'autres symptômes apparaissent, tels qu'un œdème pulmonaire, une aggravation du dysfonctionnement hépatique, et l'apparition d'anomalies visuelles ou cérébrales. La pathologie est d'autant plus sévère qu'elle apparaît précocement au cours de la grossesse. Enfin, la PE augmente les risques maternels de développer une hypertension et des pathologies cardiovasculaires après la grossesse (Ahmed *et al.*, 2014; Staff *et al.*, 2013; Young *et al.*, 2010).

2) Pathogenèse de la PE

a. Facteurs de risques maternels

L'origine de la PE est encore mal connue. Elle apparaît chez des femmes nullipares en bonne santé, où chez des femmes multipares qui ont changé de partenaire. Dans ces populations, la PE peut représenter jusqu'à 7.5% des grossesses (Young *et al.*, 2010). **L'âge maternel** (femmes trop jeunes ou au contraire trop âgées) et un délai important entre deux grossesses ont été décrits comme des facteurs de risques dans la pathogenèse de la PE. D'autres facteurs de risques, **communs aux maladies cardiovasculaires**, sont aussi retrouvés associés à la PE. Il s'agit de l'hypertension chronique, du diabète, de l'obésité, des maladies rénales, et du syndrome métabolique (Ray *et al.*, 2005). Une récente méta-analyse décrit les polymorphismes du génome maternel associés à la PE sévère. Ils peuvent être répartis en plusieurs groupes : les gènes du système immunitaire, les gènes de contrôle de la vasoconstriction, les gènes impliqués dans la thrombophilie et les gènes contrôlant des voies de signalisation, en particulier celles de l'adiponectine et de la leptine. Selon cette analyse, les

gènes impliqués dans la thrombophilie et codant pour les facteurs de coagulation tels que le facteur V (rs 6025), le facteur II (rs 1799963) et la méthylène-tétrahydrofolate réductase (rs 1801133), et le **gène du récepteur de la leptine** (rs 1137100) présentent une très forte association avec la PE (Fong *et al.*, 2014).

b. Facteurs de risques du fœtus

L'origine ethnique est également à prendre en compte. En effet, la fréquence de la PE est plus élevée dans les populations d'origine africaine. Enfin, il a été montré que des **antécédents familiaux de PE** dans une famille multiplie par 2 à 4 fois le facteur de risque de PE, suggérant une **origine génétique** de la maladie (Duckitt and Harrington, 2005).

Les études de liaison génétique ont permis d'établir un lien entre la survenue d'une PE et certains *loci* maternels, dont le gène **STOX1**. Une équipe hollandaise a décrit une fréquence plus élevée de mutations du gène **STOX1** dans une population de femmes prééclampsiques. De plus, une étude de liaison entre deux sœurs sujettes à des grossesses prééclampsiques révèle la présence d'une mutation spécifique Y153H du gène **STOX1**, confirmant l'implication de ce gène dans la PE (Dijk *et al.*, 2010; van Dijk *et al.*, 2005). Puis, une autre équipe a mis en évidence que la surexpression de **STOX1** dans la lignée JEG-3 induit un profil d'expression des ARNm comparable à celui observé dans les placentas prééclampsiques (Rigourd *et al.*, 2008). La même équipe a contruit des souris transgénique surexprimant le gène **STOX1**. Elle montre que les souris sauvages porteuses d'embryons surexprimant **STOX1** développent un syndrome « pseudo-prééclampsique ». Les mères porteuses présentent une hypertension artérielle et une protéinurie élevée au cours de la gestation, associée à une élévation des marqueurs solubles de la PE (soluble fms-like tyrosine kinase 1 sFlt1 et endogline soluble) (Doridot *et al.*, 2013). Ces résultats prometteurs suggèrent que le facteur **STOX1** serait particulièrement

impliqué dans la pathogenèse de la PE. Malheureusement, les études suivantes effectuées sur des populations hollandaises et finlandaises de femmes prééclamptiques n'ont pas retrouvé d'association entre STOX1 et la PE (*voir revue* (George and Bidwell, 2013)). Aussi son implication reste encore débattue à ce jour.

c. Physiopathologie de la PE

La PE est une maladie de l'endothélium maternel dont l'origine est placentaire. Elle est spécifique de l'espèce humaine et de la gestation. En effet, il n'existe pas de syndrome prééclamptique spontané chez l'animal, ce qui ne facilite pas la compréhension de sa physiopathologie. L'étude des facteurs responsables du défaut d'invasion trophoblastique est difficile car la PE n'est diagnostiquée qu'après le processus naturel d'invasion trophoblastique. Par conséquent, les anomalies observées ne permettent pas d'établir si elles sont la cause ou les conséquences de ce syndrome. Une des hypothèses de l'étiologie de la PE repose sur une **tolérance maternelle partielle** du fœtus. En effet, des études récentes décrivent une distribution inverse des macrophages maternels dans les artères spiralées utérines chez des patientes prééclamptiques par rapport aux patientes avec des grossesses normales (Tsatsaris *et al.*, 2010). De plus, le système HLA-G semble impliqué dans le défaut d'invasion des artères spiralées. Il a été montré que l'expression d'HLA-G dans les cellules trophoblastiques est diminuée ou absente en cas de PE (Hara *et al.*, 1996), et plusieurs polymorphismes de HLA-G sont associés à des PE sévères (*voir revue* (Mosaferi *et al.*, 2013)). Les données moléculaires récentes associées aux études anatomopathologiques ont cependant permis de construire un schéma physiopathologique comportant plusieurs étapes exposées dans la figure 11.

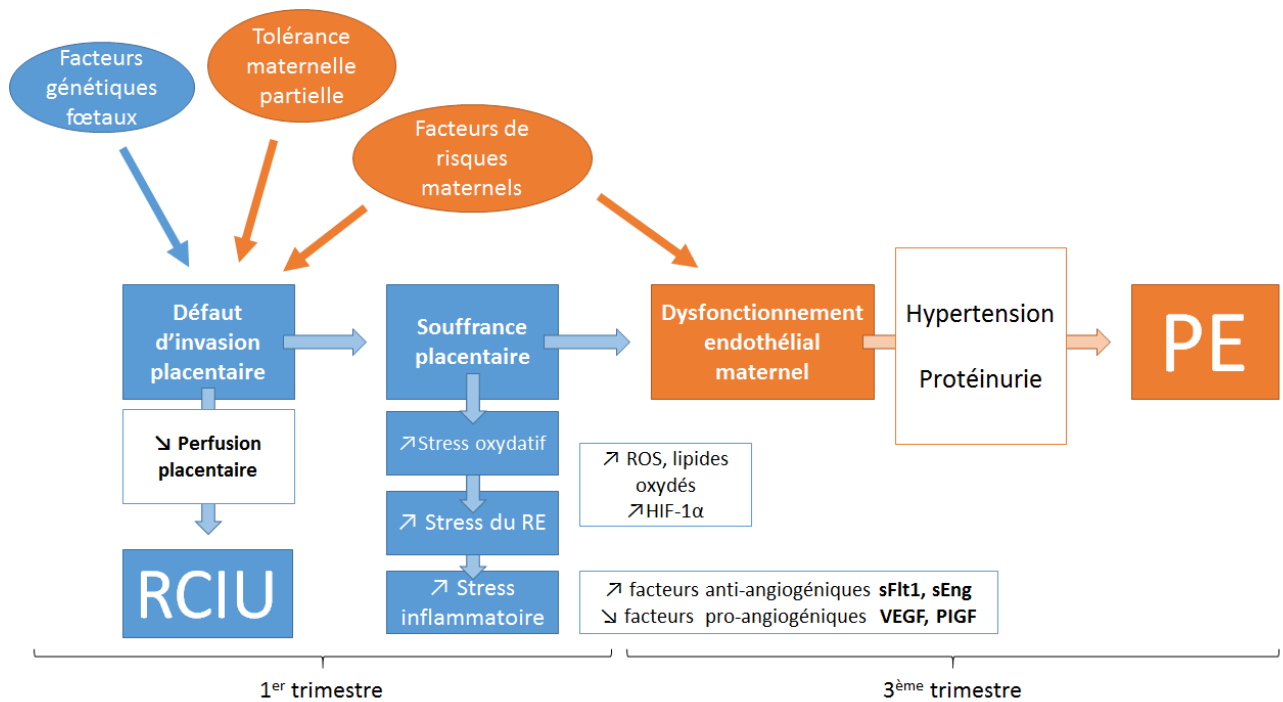


Figure 11 : Schéma simplifié de la physiopathologie de la PE.

RE: réticulum endoplasmique, ROS: espèces réactives de l'oxygène, HIF-1α: hypoxia inducible factor-1α, sFlt1: soluble fms-like tyrosine kinase 1, sEng: endogline soluble, VEGF: vascular endothelial growth factor, PlGF: placental growth factor.

L'origine de la PE peut être purement maternelle : dans ce cas, les facteurs de risques maternels évoqués précédemment induisent directement le dysfonctionnement de l'endothélium maternel et le déclenchement d'une PE. La PE peut également provenir d'un **défaut d'invasion trophoblastique associé à des facteurs de risques maternels** (Figure 11).

Le profil d'expression des molécules d'adhésion des CTEVs est anormal, demeurant de type « épithélio-endothélial », ce qui empêche l'invasion profonde du myomètre (Zhou *et al.*, 1993). De plus, plusieurs études ont décrit une baisse d'activité et d'expression des métalloprotéases à la surface des CTEVs issus de placentas prééclamptiques (Cohen *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2014). Enfin, un polymorphisme du gène codant pour la MMP9 a été associé à un risque accru de PE sévère (Rahimi *et al.*, 2013). De plus, les placentas prééclamptiques

présentent une diminution de l'expression d'une autre protéase, la **PAPP-A** (Guibourdenche *et al.*, 2013). L'invasion incomplète de l'endomètre conduit à un défaut de remodelage des artères spiralées, et à une diminution de l'afflux sanguin dans l'espace intervilloux. Ces anomalies entraînent une réduction de l'apport nutritionnel à l'interface foeto-maternelle et à un état d'hypoxie chronique.

Le défaut d'invasion et de remodelage des artères spiralées conduit donc à une **souffrance placentaire**. La souffrance placentaire induit un stress oxydatif lié à la production de radicaux oxygénés et de lipides oxydés toxiques. La souffrance placentaire se traduit également par une activation des voies de l'apoptose et de la nécrose du ST. En effet, la quantité de **débris syncytiaux** libérés dans le sang maternel augmente sensiblement au cours de la PE (Askelund and Chamley, 2011). De plus, ce dysfonctionnement placentaire induit une altération de la fonction endocrine, qui se traduit par une baisse des taux d'**hCG** et de **leptine** dans le sang maternel (*Voir revue* (Guibourdenche *et al.*, 2013)). D'ailleurs, la diminution du taux sérique d'**hCG-H** serait prédictif de la PE en début de grossesse (entre 8 et 13 semaines de grossesse) (Keikkala *et al.*, 2013), mais perdrait sa significativité après 14 semaines de grossesse (Keikkala *et al.*, 2014).

Enfin, le stress placentaire induit également un relargage de facteurs pro- et/ou anti-angiogéniques dans la circulation maternelle. Au cours de la PE, on observe une diminution des facteurs pro-angiogéniques tels que le **PIGF** (placental growth factor) et le **VEGF** et une augmentation des facteurs anti-angiogéniques tels que le **sFlt1** (aussi appelé VEGFR-1) et l'**endogline**. sFlt1 est la forme soluble du récepteur du VEGF. Il est capable de séquestrer le VEGF et le PIGF, et ainsi de supprimer leur effet. L'augmentation de la production d'endogline

est induite par le facteur HIF-1 α . Il s'ensuit une boucle d'activation de l'endogline sur le facteur HIF-1 α amplifiant le stress placentaire (Gregory, 2011; Venkatesha *et al.*, 2006).

La surproduction des facteurs anti-angiogéniques et des facteurs pro-inflammatoires (TNF α et IL-6) conduit finalement au **dysfonctionnement des cellules endothéliales maternelles**.

L'endothélium maternel est l'organe cible de la PE. La souffrance de l'endothélium maternel conduit au phénotype d'hypertension artérielle et à une souffrance rénale progressive (Maynard *et al.*, 2003; Venkatesha *et al.*, 2006).

Tableau 3 : Marqueurs sériques dérégulés au cours de la PE.

Hormones	Facteurs de croissance	Cytokines	Enzymes	Autres
\searrow hCG \searrow hCG-H \searrow Leptine	\searrow VEGF \searrow PIGF \nearrow sFlt1 \nearrow endogline soluble	\nearrow TNF- α \searrow IL-1 \nearrow IL-6	\searrow Protéases (PAPP-A, MMPs)	\nearrow HIF-1 α \nearrow Fragment placentaires circulants \nearrow ROS \nearrow Lipides oxydés

A ce jour, l'utilité des marqueurs prédictifs de la prééclampsie est encore controversée. L'ensemble des marqueurs de la PE est résumé dans le tableau 3. Cependant, les mesures des taux circulant de PIGF et de sFlt1, associées au doppler des artères utérines, permettent de diagnostiquer efficacement les PE sévères et précoces (Husse *et al.*, 2014). Cependant, ces marqueurs restent peu efficaces pour diagnostiquer les PE plus tardives. Actuellement, un essai clinique est réalisé afin de diminuer le taux circulant de sFlt1 dans des cas de PE sévères après dialyse du sang maternel. L'objectif est de réguler l'hypertension maternelle afin de permettre le maintien de la grossesse le temps nécessaire pour que le fœtus passe le stade critique de grande prématurité, lui assurant ainsi un meilleur pronostic à la naissance.

B- Le retard de croissance intra-utérin (RCIU)

1) Définition du RCIU

Le retard de croissance intra-utérin ou hypotrophie fœtale se caractérise par le « **décrochage** » **de la courbe de croissance du fœtus par rapport aux courbes de référence**. L'évaluation des paramètres de croissance repose sur la mesure du **périmètre crânien**, de la **longueur du fémur** et du **diamètre abdominal**. Il est défini lorsque ces valeurs sont en dessous du 10^{ème} voire du 3^{ème} percentile (RCIU sévère) à un âge gestationnel donné (Figure 12). Cependant, des enfants présentent un petit poids de naissance directement en relation avec leurs caractéristiques génétiques sans pathologie associée. Dans certains cas, le ralentissement de la croissance intra-utérine peut être compensé, *in utero*, conduisant à un enfant considéré comme normotrophe à la naissance. L'identification du RCIU repose donc sur le ralentissement, voir l'arrêt de la croissance, témoignant de l'existence d'un processus pathologique. Les principales conséquences du RCIU sont liées à une **souffrance fœtale chronique** et à une **prématurité** fréquente. Le RCIU est aussi fréquemment associé à des syndromes hypertensifs tels que la prééclampsie (Collège national des gynécologues et obstétriciens français, 2013).

On peut définir deux types de RCIU :

- **Le RCIU symétrique** présente une altération simultanée de tous les paramètres. Il est plus généralement d'apparition précoce mais d'évolution généralement favorable et est fréquemment associé à des anomalies chromosomiques (Nardoza *et al.*, 2012).
- **Le RCIU asymétrique** présente une altération du ratio poids/taille. Il touche en premier temps les paramètres abdominaux et les nouveaux nés naissent avec un poids trop faible par rapport à leur taille. Ce RCIU a des conséquences plus sévères et est souvent d'origine placentaire (Landmann *et al.*, 2006; Nardoza *et al.*, 2012).

Le RCIU fait partie des principales causes de morbidité et de mortalité périnatale et touche 3 à 10% des grossesses. De plus, le RCIU peut aussi avoir des conséquences à long terme sur l'enfant. Des risques accrus d'hypertension, de maladies cardio-vasculaires, de diabète de type II, d'obésité et de syndromes neuropsychiatriques ont été associés aux populations RCIU (O'Connor *et al.*, 2013).

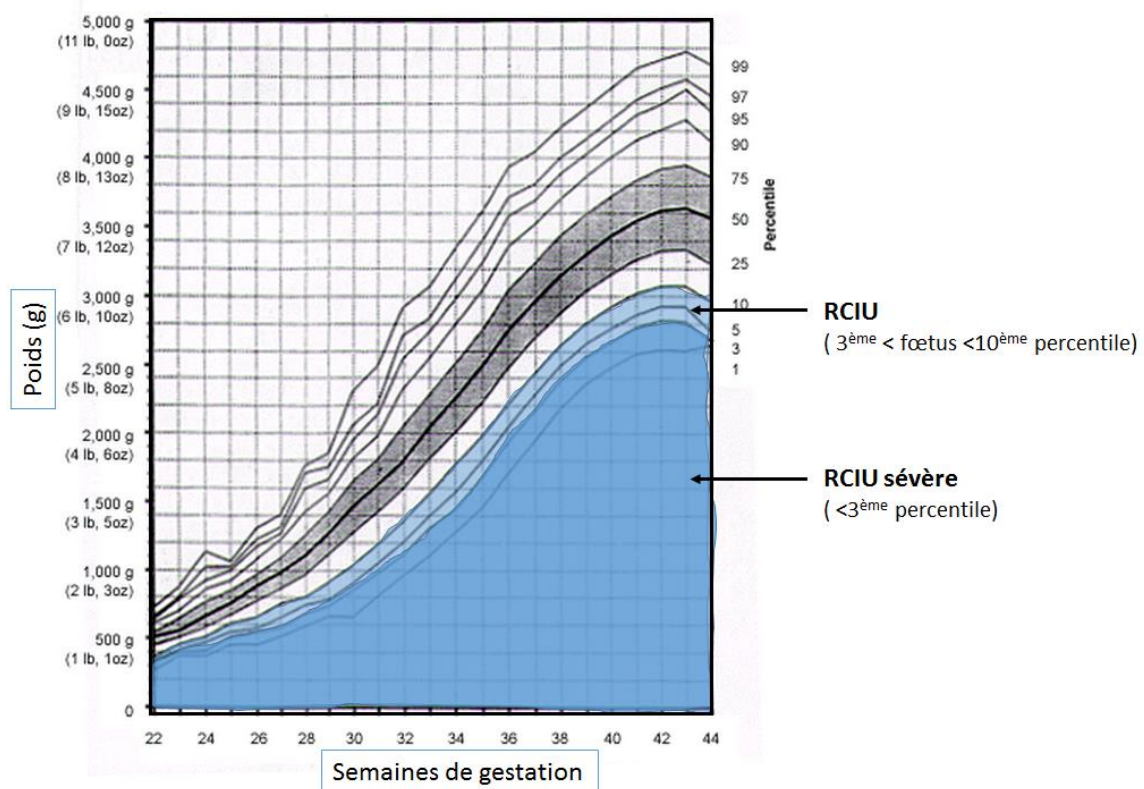


Figure 12 : Courbes de croissance du poids fœtal au cours de la grossesse. D'après (Peleg *et al.*, 1998).

2) Pathogenèse du RCIU

Le RCIU peut être dû à différents processus physiopathologiques tels que des anomalies placentaires, des pathologies maternelles chroniques ou des anomalies fœtales. Cependant, près de **70% des RCIU sont idiopathiques** (Chui *et al.*, 2012).

a. Causes maternelles

Différentes pathologies maternelles peuvent conduire à des RCIU. Il a été établi que 5 à 15% des RCIU sont d'origine infectieuse (cytomégalovirus, varicelle, rubéole, toxoplasme, herpès et syphilis) (Cordier *et al.*, 2011). De plus, l'exposition de la mère à des drogues et des substances toxiques (tabac, alcool...) peut être à l'origine de RCIU (Miller *et al.*, 1976; Mund *et al.*, 2013; Pruett *et al.*, 2013). Certains médicaments semblent aussi avoir un impact sur la croissance fœtale. En effet, il a été clairement établi que l'administration maternelle de glucocorticoides chez l'animal gestant ou chez la femme était à l'origine de RCIU (de Graeff-Meeder and Wit, 1986; Parvez *et al.*, 1976).

Par ailleurs, un antécédent de RCIU multiplie par quatre le risque d'hypotrophie fœtale. Aujourd'hui, les facteurs de prédisposition au RCIU sont bien décrits. Il s'agit de la primiparité et de la grande multiparité ou encore des âges extrêmes, des maladies chroniques (hypertension, diabète préexistant), ou enfin des poids maternels extrêmes (insufisance pondérale ou obésité) (Collège national des gynécologues et obstétriciens français, 2013).

Enfin, la **nutrition maternelle** semble jouer un rôle important dans le développement fœtal. En effet, le statut nutritionnel pourrait modifier le profil de méthylation du génome fœtal en altérant la disponibilité en nutriments donneurs de groupements méthyls tels que les folates. Des études menées chez le rat ont d'ailleurs montré qu'une restriction de l'apport protéique induit une modification du profil de méthylation de certains gènes fœtaux et peut ainsi entraîner un RCIU (Lillicrop *et al.*, 2005; Mayeur *et al.*, 2013).

b. Causes fœtales

Au début du développement embryonnaire, le principal déterminant de la croissance est le **génome fœtal**. De nombreuses anomalies chromosomiques sont associées à des

malformations fœtales et des RCIU. Les fœtus présentant des aneuploïdies, en particulier les trisomies 13 et 18, sont souvent atteints de RCIU. De plus, des anomalies de gènes clés du développement embryonnaire peuvent être responsables de RCIU (Agrogiannis *et al.*, 2014). Il a été montré que des mutations du gène *IGF1* ou du récepteur de l'insuline induisent un RCIU chez la souris (DeChiara *et al.*, 1990; Tamemoto *et al.*, 1994). Les anomalies du gène *IGF1* étudiées chez l'Homme mettent en évidence un rôle critique de ce gène dans la croissance fœtale et post-natale, plus particulièrement dans le développement cérébral (Netchine *et al.*, 2011).

Enfin, les **grossesses gémellaires** peuvent aussi être une cause de retard de croissance. En particulier, dans le cas où la différence de poids entre les deux fœtus est de plus de 20%, un RCIU est observé dans plus de 50% des cas.

c. Causes placentaires

Le placenta joue un rôle critique dans la nutrition et la croissance du fœtus. **Des anomalies placentaires sont très fréquemment décrites dans les RCIU.** D'ailleurs, des études suggèrent que la réduction placentaire précède le retard de croissance fœtal (Hafner *et al.*, 2003; Thame *et al.*, 2004). Les anomalies morphologiques et fonctionnelles placentaires sont retrouvées dans 70 à 90% des cas. Les placentas RCIU présentent des **anomalies vasculaires**, associées à des défauts de l'angiogenèse et des lésions vasculaires (Arroyo and Winn, 2008; Barut *et al.*, 2010; Gourvas *et al.*, 2012; Khong *et al.*, 1986; Kovo *et al.*, 2013). De plus, le RCIU est souvent associé à des défauts de la différenciation trophoblastique. Des études d'ultrastructure révèlent un déficit en microvillosités du ST des placentas RCIU (Sheppard and Bonnar, 1980; Wawrzycka *et al.*, 2001). De plus, il a été montré que les CTVs cultivés *in vitro*, à partir de placentas RCIU, présentent des niveaux de sécrétion d'hCG et d'hPL plus importants que des

placentas contrôles, suggérant un déséquilibre de la différenciation dans cette pathologie (Newhouse *et al.*, 2007). Enfin, plusieurs études démontrent que les placentas RCIU présentent des dysfonctions mitochondriales. Le lien entre les mitochondries et les pathologies de la grossesse sera détaillé dans le chapitre suivant.

C- Mitochondries et pathologies de la grossesse

Au cours de ces dernières années, différentes études se sont intéressées au rôle des mitochondries dans le développement placentaire au cours de grossesses normales ou pathologiques.

1) Généralités

a. Définition des mitochondries

« Voies de régulation de la fonction mitochondriale dans les modèles de tumeurs thyroïdiennes », Thèse de biologie cellulaire, (LE PENNEC, 2010).

« Rôle d'OPA1 dans le fonctionnement et l'architecture des cellules musculaires striées et dans la réponse à un stress », Thèse de biologie cellulaire, (Caffin, 2012).

Les mitochondries sont des organelles au centre du métabolisme énergétique cellulaire. Elles se composent de deux membranes, une externe et une interne, qui délimitent trois compartiments différents: la matrice, la membrane interne et l'espace inter-membranaire. Les deux membranes diffèrent par leur composition, leur activité et leurs fonctions. La membrane externe délimite la mitochondrie du cytoplasme et est perméable aux molécules de poids moléculaire inférieur à 10 kDa. La membrane interne forme des replis appelés crêtes mitochondriales, ou *cristae*. La membrane interne présente une perméabilité réduite et sélective. Elle constitue une barrière maintenant un gradient électrochimique utilisé dans la phosphorylation oxydative et la production d'ATP. La matrice mitochondriale contient le

matériel génétique mitochondrial, ainsi que de nombreuses enzymes participant à des voies métaboliques telles que le cycle des acides tri-carboxyliques (TCA), la β -oxydation des acides gras, et le cycle de l'urée.

Les mitochondries possèdent leur propre génome constitué d'un chromosome circulaire. Chez l'Homme, le génome mitochondrial code pour 13 protéines appartenant à la chaîne respiratoire, ainsi que pour des ARNt et des ARNr nécessaires à la machinerie transcriptionnelle et traductionnelle mitochondriale. Quatre-vingt dix pour cent des protéines mitochondriales sont codées par le génome nucléaire, qui contribue à la synthèse de plus de 1500 protéines différentes. Les mitochondries peuvent contenir plusieurs copies de leur génome (de 1 à 10 copies). Ce sont des organelles dynamiques, capables de fusion, de fission, et de réplication. Cependant, ces différentes fonctions sont sous le contrôle du génome nucléaire, et se réalisent en réponse aux besoins de la cellule.

b. La biogenèse mitochondriale

Le terme de biogenèse mitochondriale est utilisé pour décrire à la fois la formation des mitochondries et le processus régulant la masse et la fonction mitochondriale, par lequel de nouvelles mitochondries sont formées.

Contrairement à d'autres organites, la **biogenèse mitochondriale ne peut se faire qu'à partir de mitochondries existantes**. Après une phase de croissance qui permet d'augmenter le stock de protéines mitochondriales et de répliquer le génome, la mitochondrie se divise. La biogenèse mitochondriale nécessite la **coordination entre la transcription des gènes nucléaires et des gènes mitochondriaux**. Plus précisément, la biogenèse mitochondriale dépend de l'expression de facteurs de transcription et de la présence des co-activateurs nucléaires. Les facteurs de transcription **NRF-1 et 2** (Nuclear respiratory factors 1 and 2) (Kovac

et al., 2015), **ERRs** (Eichner and Giguère, 2011), **PPARs** (Liu *et al.*, 2011; Ryu *et al.*, 2013), **CREB**, le proto-oncogène **c-Myc** (Wang *et al.*, 2011), **Sp-1** (Blesa *et al.*, 2008) et **YY-1** (Ying Yang-1), avec les co-activateurs de la famille **PGC-1** (PPAR γ -coactivator-1) (Goffart and Wiesner, 2003), initient la transcription de **TFAM** (Transcription Factor A, Mitochondrial) et de **POLMRT** (mitochondrial DNA direct polymerase) (Wu *et al.*, 1999). Le facteur TFAM et la polymérase POLMRT sont importés dans la mitochondrie où ils activent l'initiation de la réplication et la transcription du génome mitochondrial (Figure 13).

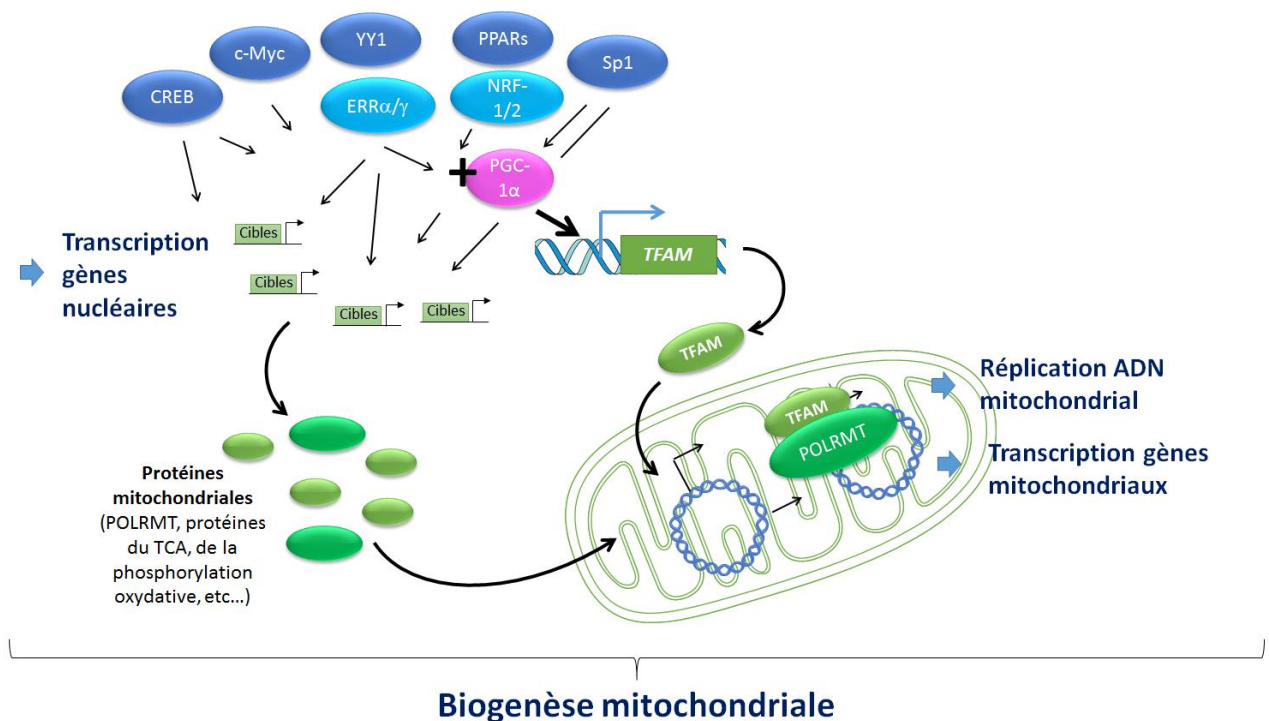


Figure 13 : La biogenèse mitochondriale.

CREB: cAMP response element binding protein, YY1: ying yang-1, PPARs: peroxisome proliferator-activated receptors, ERR α/γ : estrogen related receptor α/γ , NRF1/2: nuclear respiratory factor 1/2, PGC-1 α : PPAR γ -coactivator-1 α , TFAM: transcription factor A, mitochondrial, POLMRT: mitochondrial DNA direct polymerase, TCA: cycle des acides tricarboxyliques.

La régulation de la biogenèse mitochondriale est très dépendante du niveau d'expression de PGC-1 α . L'expression et/ou l'activité de PGC-1 α peut être induite en réponse à différents signaux :

Le signal primordial est le statut énergétique cellulaire. En effet, l'expression de PGC-1 α est augmentée en réponse à une diminution du **rapport ATP/AMP**. Ce signal active la voie de signalisation de la PKA, qui elle-même active le facteur de transcription CREB et induit l'expression de PGC-1 α (Signorile *et al.*, 2014).

Le stress mitochondrial est le second signal de la régulation de PGC-1 α . Ce signal est médié par les **voies rétrogrades mitochondriales**. Les voies rétrogrades mitochondriales sont définies comme le transfert d'informations des mitochondries vers le cytoplasme et le noyau. Chez les mammifères, l'activation des voies rétrogrades conduisent à la libération du calcium, de l'acétyl-coA et des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans le cytoplasme. L'augmentation du calcium cytoplasmique induit l'activation des **voies JNK/MAPK** et de la **calmoduline kinase** qui activent respectivement les facteurs **CREB** et **ERR γ** , et par conséquent, **PGC-1 α** (Biswas *et al.*, 1999). L'augmentation des ROS cytoplasmiques active les enzymes sensibles au stress redox et conduit à l'activation des voies **ERK et mTOR**. Ces voies de signalisation activent les facteurs **cMyc et NRF-2** qui s'associent à PGC-1 α pour induire la biogénèse mitochondriale (Dodson *et al.*, 2013). Le stress mitochondrial conduit également à la diminution i) du ratio ATP/AMP qui active la voie de **la PKA et de l'AMPK** et ii) du rapport NADH,H⁺/NAD⁺ qui active des déacétylases NAD⁺ dépendantes, appelées sirtuines (SIRT) (*voir revue* (Picard *et al.*, 2013)). En particulier, SIRT1 augmente directement l'activité de PGC-1 α en le désacétylant (*voir revue* (Rodgers *et al.*, 2008)).

Enfin, **l'oxyde nitrique (NO)** agit également sur l'expression de PGC-1 α par l'intermédiaire de la voie GMPc (Butow and Avadhani, 2004).

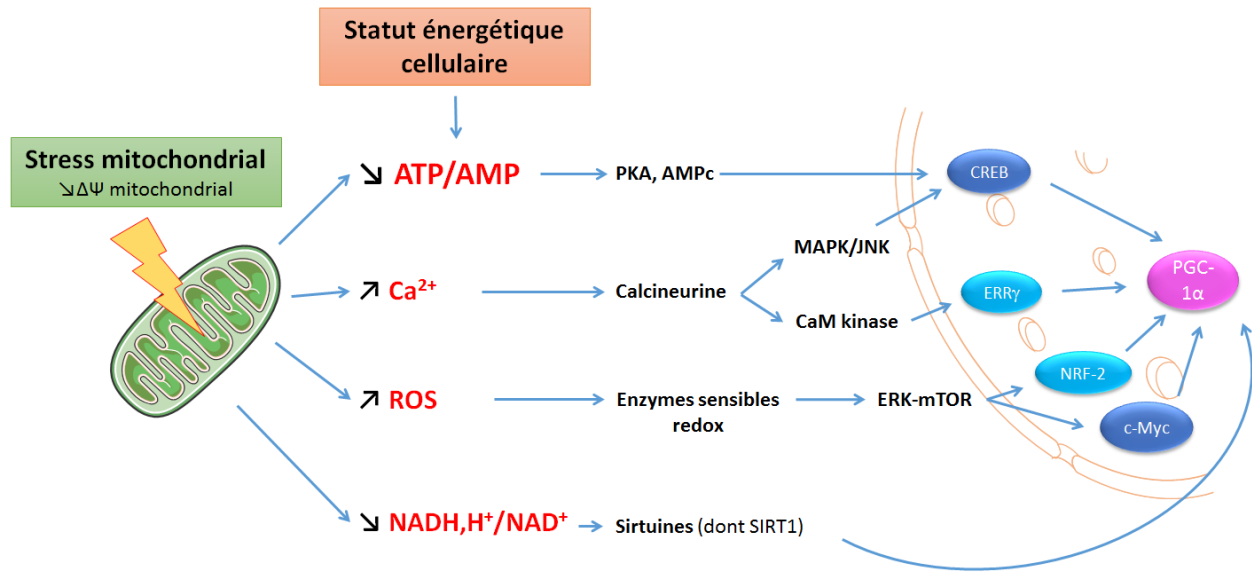


Figure 14 : Voies rétrogrades mitochondriales. D'après Picard et al. 2013.

ROS: espèces réactives de l'oxygène, CaM kinase: calmoduline kinase, MAPK/JNK: Mitogen activated protein kinase/c-Jun N-terminal kinase, ERK: Extracellular signal-regulated kinases, mTOR: Mammalian target of rapamycin, CREB: cAMP response element binding protein, PGC-1 α : PPAR γ coactivator-1 α , ERR γ : Estrogen related receptor- γ , NRF-2: nuclear respiratory factor-2, SIRT1: sirtuine 1.

2) Rôle des mitochondries

a. Rôle énergétique

La fonction principale des mitochondries est la production d'énergie sous forme d'**ATP** (adénosine triphosphate). Les coenzymes réduits NADH,H⁺ et FADH₂ produits au cours du cycle des acides tri-carboxylique (TCA) sont réoxydés dans la chaîne respiratoire. Les cinq complexes de la chaîne respiratoire, appelés complexes I, II, III, IV et V, sont situés dans la membrane interne mitochondriale. Au cours de réactions d'oxydo-réduction, les électrons sont transportés entre les différents complexes et la différence de potentiel redox est utilisée pour « éjecter » les protons de la matrice vers l'espace inter-membranaire. Le retour des protons dans la matrice mitochondriale est réalisé à travers le complexe V de la chaîne respiratoire, aussi appelé ATP synthase, et permet de produire de l'ATP.

L'activité de la chaîne respiratoire est dépendante du statut énergétique de la cellule. Elle est en particulier activée lorsque le rapport ATP/AMP est faible. Par ailleurs, l'inhibition de la chaîne respiratoire mitochondriale par le biais d'agents pharmacologiques, tels que l'oligomycine, l'antimycine A et la roténone, conduit à l'inactivation des fonctions mitochondriales. De même, la disparition du gradient électrochimique induite par des agents découplants tels que le CCCP (carbonyl cyanide-m-chlorophenylhydrazone) ou le DNP (2-4 dinitrophénol) altère les fonctions mitochondriales.

b. Autres fonctions des mitochondries

Parallèlement à la production d'énergie, les mitochondries assurent de multiples fonctions.

Elles jouent un rôle majeur dans la **biosynthèse de nombreuses molécules**, telles que les bases pyrimidiques, l'hème, et les hormones stéroïdes. En effet, plusieurs étapes de la biosynthèse des hormones stéroïdes se déroulent dans la mitochondrie. En particulier, l'étape initiale et limitante assurant la transformation du cholestérol en prégnélonone est réalisée dans la mitochondrie par l'enzyme cytochrome P450 side-chain cleavage enzyme (*CYP11A*) localisée sur la membrane interne (Ramalho-Santos and Amaral, 2013).

Les mitochondries jouent également un rôle majeur dans le phénomène apoptotique.

L'apoptose est un processus de mort cellulaire physiologique, génétiquement programmé, nécessaire à la survie et au développement des organismes multicellulaires dont nous avons parlé dans le paragraphe I-C-c. Le processus apoptotique fait intervenir deux voies, la voie intrinsèque et la voie extrinsèque.

Les mitochondries médient la voie intrinsèque de l'apoptose. A la suite d'un signal nucléaire (lésions de l'ADN), le facteur de transcription p53 (appelé aussi « gardien du génome ») est activé. p53 régule l'expression de nombreux gènes cibles, parmi lesquels des gènes de la

famille Bcl2. Plus précisément, p53 augmente l'expression des facteurs pro-apoptotiques et diminue l'expression des facteurs anti-apoptotiques. Il en résulte une perméabilisation des membranes mitochondriales et une chute du potentiel de membrane mitochondrial. Ces événements déclenchent le recrutement et l'activation de la caspase initiateur 9. Cette dernière active les caspases effectrices par clivage, enclenchant ainsi le processus apoptotique.

Les mitochondries assurent aussi le **maintien de l'homéostasie calcique** par leur capacité de stockage et déstockage rapide des ions calcium. Enfin, elles interviennent dans l'homéostasie des lipides et des hydrates de carbones, la régulation du pH intracellulaire, et le processus de **thermogenèse**.

c. Rôle dans la différenciation cellulaire

Plus récemment, des études ont mis en évidence un rôle des mitochondries dans **le contrôle de la différenciation cellulaire**.

Concernant la différenciation des cellules placentaires, une étude publiée en 2011 décrit un **changement morphologique et fonctionnel des mitochondries au cours de la différenciation** du CTV en ST. Les images d'ultrastructure révèlent que les mitochondries du CTV ont un aspect dit « classique », avec des crêtes mitochondriales régulières, tandis que les mitochondries du ST sont plus petites et présentent une organisation des crêtes mitochondriales irrégulières. De plus, les études fonctionnelles révèlent une baisse de production d'ATP dans les mitochondries « atypiques » du ST. En revanche, ces mitochondries produisent plus de progestérone, ce qui suggère que les mitochondries du ST se spécialisent pour assurer la production hormonale du ST (De los Rios Castillo *et al.*, 2011). En 2012, une étude a décrit un changement d'organisation du réseau mitochondrial et une augmentation de l'activité de la

chaîne respiratoire au cours de la différenciation des cellules embryonnaires humaines (hESC) en cellules mésenchymateuses (Prowse *et al.*, 2012). De même, l'activité et la biogenèse mitochondriale augmentent drastiquement au cours de la différenciation des myoblastes et des cellules endométriales. Ces deux types cellulaires se différencient en fusionnant (Ma *et al.*, 2011; Wagatsuma and Sakuma, 2013). Enfin, en 2013, une étude montre qu'au cours de la différenciation des cellules souches hématopoïétiques, le métabolisme énergétique est modifié. Les auteurs montrent un changement de la voie glycolytique anaérobie vers la voie oxydative mitochondriale. Ce changement métabolique est associé à une surexpression des enzymes **PDK** (pyruvate déshydrogénase kinase) dans les cellules au stade indifférencié. Les PDK sont des protéines kinases inhibitrices de la pyruvate déshydrogénase (PDH), l'enzyme clé de l'entrée du pyruvate issu de la glycolyse dans la mitochondrie. Par des expériences d'inactivation et d'activation de PDK2 et PDK4, les auteurs démontrent que l'activité des PDK, et par conséquent la glycolyse anaérobie, est nécessaire pour le maintien du statut non différencié des cellules souches hématopoïétiques. Cette étude souligne le lien entre statut métabolique et différenciation cellulaire (Takubo *et al.*, 2013).

L'ensemble de ces résultats suggèrent que les mitochondries sont importantes dans le processus de différenciation de plusieurs types cellulaires dont les cytotrophoblastes.

3) Dysfonctions mitochondriales associées à des pathologies de la grossesse

Différents travaux décrivent des dysfonctions mitochondriales dans des placentas pathologiques. Ainsi, en 1997, une étude japonaise a mis en évidence une activité plus faible de la cytochrome c oxidase, une enzyme de la chaîne respiratoire mitochondriale, dans les placentas pré-éclamptiques (S. Matsubara *et al.*, 1997). En 2008, un travail présente une

augmentation de la quantité d'ADN mitochondrial (x1.38) dans une population de 24 placentas RCIU comparée à 26 placentas contrôles (Lattuada *et al.*, 2008). Puis en 2010, une autre étude décrit une baisse de l'activité mitochondriale dans des cellules endothéliales ombilicales issues de placentas PE ou de HELLP syndrome (Illsinger *et al.*, 2010). Par ailleurs, une étude a décrit une altération de la voie apoptotique mitochondriale dans des placentas RCIU issus d'un modèle murin de restriction alimentaire (Belkacemi *et al.*, 2011). Enfin, une étude démontre également que l'inhibition de l'activité mitochondriale dans des embryons de souris avant leur implantation, altère leur développement embryonnaire et induit un RCIU (Wakefield *et al.*, 2011). Plus récemment, il a été montré que le micro-ARN, miR-210, est surexprimé dans les placentas prééclampsiques. Or, miR-210 est décrit comme un inhibiteur de l'activité mitochondriale (Muralimanoharan *et al.*, 2012). Inversement, la mitofusine 2, un acteur majeur de la fusion et de la fonction mitochondriale, est sous-exprimée dans les placentas de femmes présentant des fausses couches inexpliquées (Pang *et al.*, 2013). Enfin, une dernière étude publiée en 2014, décrit une augmentation de l'ADN mitochondrial (ADNmt), associée à une augmentation d'un marqueur de la biogenèse mitochondriale NRF1 dans 8 placentas RCIU sévères (Mandò *et al.*, 2014).

4) Mutations mitochondriales associées à des pathologies de la grossesse

Une première étude publiée en 1989 présente le cas d'une famille avec une mutation génétique induisant une dysfonction mitochondriale (dénommée le syndrome de Friedreich) associée à une forte prévalence de PE et d'éclampsie (Torbergson *et al.*, 1989). Plus récemment, en 2002, une étude publie le suivi de 35 familles avec des mutations hétérogènes sur des gènes codant pour les enzymes mitochondriales de la β -oxydation. Elle décrit une forte prévalence de RCIU (43%), de PE associées à un HELLP syndrome (11%) et de prématurité

(68%) chez les fœtus porteurs d'une mutation (Yang *et al.*, 2002). En 2008, une étude rétrospective anglaise portant sur une population d'enfants possédant des anomalies de la chaîne respiratoire mitochondriale, démontre que plus d'un quart de cette population a présenté un RCIU (Gibson *et al.*, 2008). Le rôle majeur des mitochondries est renforcé par une dernière étude publiée en 2013, qui montre que les souris KO pour le gène Clpp, codant pour une peptidase mitochondriale (Caseinolytic Mitochondrial Matrix Peptidase Proteolytic Subunit), présentent un RCIU. Chez l'Homme, la mutation du gène Clpp, appelé syndrome de Perrault, induit une infertilité (Gispert *et al.*, 2013).

L'ensemble de ces études suggèrent une association entre les fonctions mitochondriales et les pathologies de la grossesse.

III- Les récepteurs apparentés aux récepteurs des oestrogènes (ERRs)

A- Généralités sur les ERRs

1) Structure des ERRs

La famille des récepteurs apparentés aux récepteurs des œstrogènes (Estrogen Related Receptors), est constituée de 3 membres : ERR α , ERR β et ERR γ . En 1988, l'équipe de Giguère a découvert les deux sous-types ERR α et ERR β par criblage génomique (Giguère *et al.*, 1988). Dix ans plus tard, une autre équipe a mis en évidence le troisième sous type, ERR γ (Hong *et al.*, 1999). Le gène d'ERR α (*ESRRA*) est situé sur le chromosome 11. D'une longueur de 15 kb, il comporte huit exons. Il existe deux isoformes protéiques différentes issues de l'épissage alternatif de l'ARNm d'ERR α . Le gène d'ERR β (*ESRRB*) est situé sur le chromosome 14. D'une longueur de 231 kb, il comporte quatorze exons et trois isoformes protéiques différentes

d'ERR β sont décrites. Enfin, ERR γ est codé par le gène *ESRRG* localisé sur le chromosome 1. D'une longueur de 825 kb, ce gène est composé de vingt-cinq exons et cinq isoformes protéiques issues de l'épissage alternatif de son ARNm ont été identifiées.

Les ERRs sont des facteurs de transcription capables de reconnaître et de se lier à un élément de réponse spécifique ERRE (TnAAGGTCA) (Sladek *et al.*, 1997).

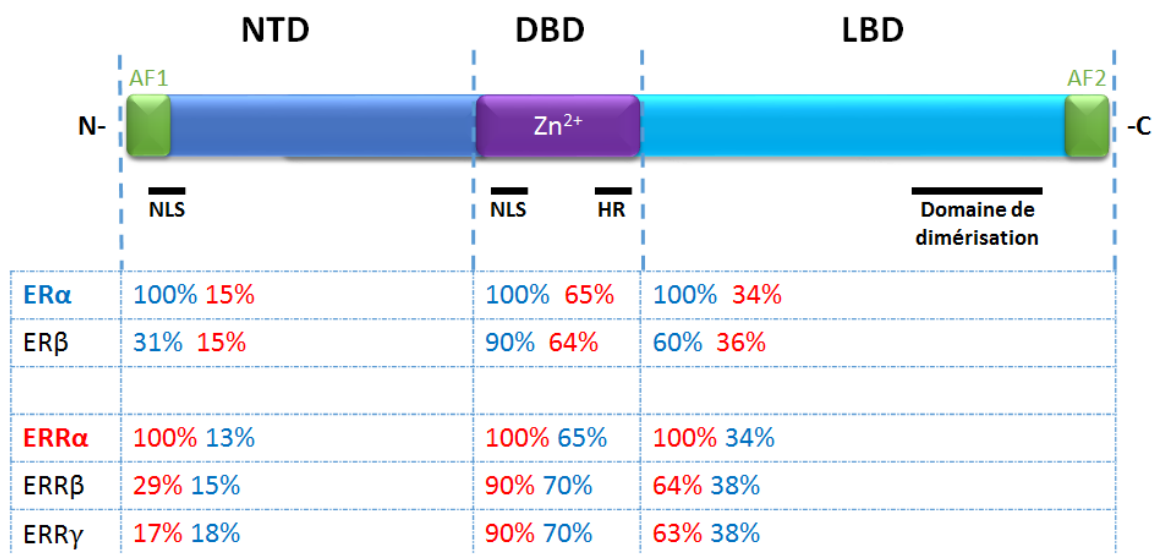


Figure 15 : Structure commune des ERs et des ERRs. En rouge, pourcentage d'homologie de séquence par rapport à ERR α , en bleu, pourcentage d'homologie par rapport à ER α . D'après May, 2014.

NTD : domaine N-terminal, DBD : domaine de liaison à l'ADN, LBD : domaine de liaison du ligand, AF1 : domaine d'activation ligand indépendant, AF2 : domaine d'activation ligand dépendant, NLS : séquence de localisation nucléaire, HR : région charnière.

Les trois ERRs possèdent la structure caractéristique des récepteurs nucléaires qui inclue : Un domaine **N-terminal** non conservé (**NTD**), un domaine de liaison à l'ADN en doigt de zinc (**DBD**), et un domaine de liaison des ligands (**LBD**). Dans ce domaine, on retrouve aussi un domaine de dimérisation, et un domaine de répression de la transcription. Les récepteurs nucléaires possèdent également des domaines d'activation et de liaison des co-régulateurs (**AF1 et AF2**). Le domaine AF1 est indépendant de la liaison d'un ligand. En revanche, le domaine AF2, classiquement décrit comme un domaine dépendant de la fixation du ligand,

est en configuration active pour les ERRs. Deux séquences de localisation nucléaires (NLS) et la région charnière (HR) participent à la localisation nucléaire des récepteurs nucléaires (May, 2014).

Comme le présente la figure 15, les ERRs présentent des homologies de structure avec les récepteurs aux oestrogènes (ERs), particulièrement dans leur domaine de liaison à l'ADN. Cependant, les ERRs ne se lient à aucune des hormones stéroïdiennes connues. Ils constituent ainsi la première famille de **récepteurs nucléaires orphelins**. Les ERRs fonctionnent de manière constitutive, et leur activité transcriptionnelle est régulée par la présence de facteurs co-activateurs et co-répresseurs dans la cellule.

De plus, les 3 ERRs présentent entre eux une forte homologie de séquence dans leur LBD et la région charnière, ce qui suggère que ces domaines sont importants pour la régulation de l'activité transcriptionnelle des ERRs (Giguère, 2008). Le domaine DBD est également très conservé entre les ERRs, suggérant que les trois sous-types d'ERRs puissent contrôler les mêmes gènes cibles via l'élément de réponse ERRE.

2) Mécanismes d'action des ERRs

L'activité transcriptionnelle des ERRs dépend de la présence de protéines co-régulatrices. Plus de 200 protéines co-activatrices ou co-répresseuses ont été décrites dans la cellule à ce jour. Chacune présente un domaine d'expression spécifique, un profil d'interaction avec des récepteurs nucléaires spécifiques et une activité transcriptionnelle spécifique. Plusieurs co-régulateurs impliqués dans le métabolisme énergétique interagissent avec les ERRs. **Les PPAR γ co-activateurs (PGC-1 α et β) sont leurs co-activateurs privilégiés.** Ils sont impliqués dans la biogenèse mitochondriale, les apports nutritionnels, l'adaptation de la thermogenèse, et l'activité mitochondriale (Huss *et al.*, 2002; Takacs *et al.*, 2013). PGC-1 α augmente

fortement l'activité transcriptionnelle des ERRs (Giguère, 2008). La famille des **steroid receptor coactivator (SRC-1, 2 et 3)** (Jeong *et al.*, 2006), importants pour le métabolisme hépatique, le stockage des graisses et la balance énergétique, interagissent également avec les ERRs. De même, le co-répresseur **receptor interacting protein 140 (RIP140)** intervient dans le stockage des graisses et le métabolisme oxydatif et réprime fréquemment l'activité transcriptionnelle des ERRs (Castet *et al.*, 2006).

Une fois associés à leurs co-activateurs, les ERRs se lient à la séquence ERRE permettant ainsi le recrutement du complexe transcriptionnel et l'expression des gènes cibles (Figure 16). **L'activité des ERRs dépend donc de la disponibilité dans la cellule des co-activateurs et des co-répresseurs.**

Les ERRs peuvent **se lier aux ERRE sous une forme monomérique, homodimérique ou hétérodimérique** (Barry *et al.*, 2006; Huppunen *et al.*, 2004). L'existence du dimère ERR α -ERR γ a d'ailleurs été démontrée grâce à des expériences d'immunoprécipitation de la chromatine réalisées dans le cœur humain (Catherine R Dufour *et al.*, 2007). Cependant, l'activité transcriptionnelle des différents dimères n'est pas équivalente. En effet, les expériences de gène rapporteur, *in vitro*, démontrent que l'hétérodimère ERR α -ERR γ est moins actif que l'homodimère ERR γ -ERR γ dans des cellules cancéreuses humaines HeLa (Huppunen and Aarnisalo, 2004).

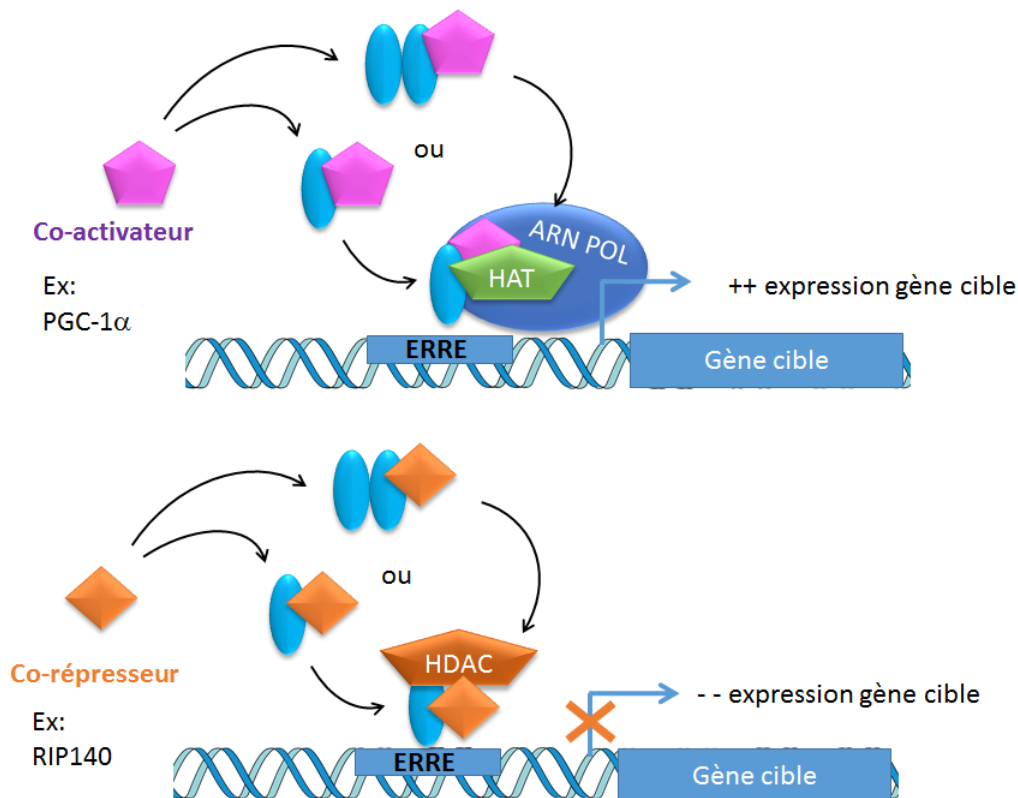


Figure 16 : Mécanisme d'action des ERRs.

PGC-1α : PPARγ coactivator-1α, RIP140 : receptor interacting protein 140, HAT: histone acetyl transférase, HDAC: histone déacétyl transférase, ERRE: ERR response element, ARN pol: ARN polymerase.

3) Les ligands des ERRs

Les études cristallographiques des domaines LBD des ERRs ont mis en évidence que les hélices α du domaine d'activation AF2 sont en conformation « active » en absence de ligand. Par conséquent, les ERRs sont capables d'interagir avec des co-activateurs ou de se dimériser indépendamment de la liaison d'un ligand. Cependant, la structure cristallographique du domaine LBD des ERRs révèle également la présence d'une poche de liaison à des molécules de synthèse. Ainsi, divers ligands de synthèse ont été décrits comme étant capables de moduler l'activation des ERRs de manière plus ou moins spécifique (Tableau 4).

Tableau 4 : Liste des agonistes (en vert) et des antagonistes (en rouge) des ERRs.

ERR α	ERR β	ERR γ
	DES (Tremblay <i>et al.</i> , 2001b)	
	4-hydroxy-tamoxifène (Coward <i>et al.</i> , 2001; Tremblay <i>et al.</i> , 2001a) GSK-4716, GSK-9089 (Wang <i>et al.</i> , 2010; Zuercher <i>et al.</i> , 2005) DY131 (Yu and Forman, 2005)	
XCT790 (Wu <i>et al.</i> , 2009)		Bisphénol A (Takayanagi <i>et al.</i> , 2006; Tohmé <i>et al.</i> , 2014) GSK-5182 (Chao <i>et al.</i> , 2006)

La spécificité de liaison de ces agents pharmaceutiques à des récepteurs nucléaires est relative.

Ainsi, le **DES** (diethylstilbestrol), qui est un antagoniste des ERRs, est aussi un agoniste des ERs. Il se lie aux ERRs avec une affinité quatre fois plus élevée par rapport aux ERs (IC 50 ERR γ = 0.079 μ M, et IC 50 ER α = 0.32 μ M). De même, le **4-hydroxytamoxifène** inhibe l'activité d'ERR β et d'ERR γ , mais il antagonise également les ERs, avec une affinité six fois plus élevée (IC 50 ERR γ = 0.015 μ M, IC 50 ERs = 0.0026 μ M). Enfin, le **GSK-5182** est un antagoniste d'ERR γ qui exerce également un effet antagoniste sur ER α , bien qu'il se lie avec quatre fois plus d'affinité sur ERR γ (IC 50 ERR γ = 0.079 μ M, IC 50 ER α = 0.32 μ M).

Le **bisphénol A (BPA)** est un perturbateur endocrinien. D'une part, il se lie fortement à ERR γ (IC 50 ERR γ = 0.0055-0.22 μ M), et agit comme un agoniste. D'autre part, le BPA inhibe l'activité d'ER α (IC 50 ER α = 0.44 μ M), du récepteur aux glucocorticoïdes, du récepteur des androgènes et du récepteur aux hormones thyroïdiennes, avec lesquels il se lie avec une moindre affinité (IC 50 GR = 0.39 μ M, IC 50 AR = 0.50 μ M et IC 50 TR = 0.01-0.3 μ M).

Cependant, il existe des agonistes des ERRs très spécifiques. Les composés de type **GSK-4716** et **GSK-9089** ont une affinité équivalente pour ERR β et ERR γ (IC 50 ERR γ = 1.3 μ M). Enfin, le **DY131** active spécifiquement ERR β et ERR γ , avec une affinité cinq fois supérieure pour ERR γ (IC 50 ERR γ = 0.13-0.66 μ M, IC 50 ERR β = 1.5 μ M).

Les informations sur les coefficients d'affinités sont tirées du site

<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

4) Rôles des ERRs

a. Rôle ancestral des ERRs : apport de la drosophile

L'existence d'un seul ERR chez *Drosophila melanogaster* (dERR) empêche la redondance génétique observée chez les mammifères, et a permis de mettre en évidence les fonctions ancestrales de ce facteur de transcription. dERR joue un rôle critique dans l'adaptation du métabolisme énergétique qui se déroule durant le second stade larvaire de la drosophile. Les larves dERR $-/-$ décèdent à ce stade. Elles présentent un déficit énergétique, des taux trop élevés de glucides et des taux trop faibles de triglycérides circulants et une inhibition de l'expression des gènes de la glycolyse, de la voie des pentoses-phosphate et du métabolisme des carbohydrates dans son ensemble (Tennessee *et al.*, 2011). De plus, une étude a montré que dERR participe fortement à la réponse hypoxique en se liant au facteur de transcription dHIF-1 α (Li *et al.*, 2013). **dERR est donc un régulateur essentiel du métabolisme énergétique de la drosophile.**

b. Fonction d'ERR α et d'ERR γ : apport des souris KO et des études transcriptomiques chez l'Homme

Du fait de leur forte homologie de structure, il existe une redondance entre les différents gènes des ERRs chez les mammifères. Cette redondance a rendu difficile l'étude des fonctions

de ces récepteurs. En effet, la suppression d'un des sous-types peut être compensée par une autre dans certaines situations. C'est le cas pour les **souris ERR α -/-**, qui sont parfaitement viables et fertiles, à l'exception d'une masse corporelle réduite et d'une lipogenèse altérée. En effet, l'analyse par puce ADN révèle que le tissu adipeux des souris ERR α -/- présente une forte dérégulation de l'expression des gènes de la lipogenèse, du métabolisme énergétique et de l'adipogenèse (Luo *et al.*, 2003).

Au contraire, les **souris ERR γ -/-** présentent des anomalies et des malformations cardiaques qui conduisent à la mort des souriceaux à la naissance (Alaynick *et al.*, 2007). Ces anomalies seront décrites plus en détail dans la section suivante.

La découverte du rôle des ERRs chez l'Homme a beaucoup progressé à travers les études transcriptomiques qui ont permis l'identification des gènes cibles des ERRs. Ainsi, plusieurs études ont démontré qu'ERR α et ERR γ possèdent de nombreux gènes cibles en commun impliqués dans la régulation de la chaîne respiratoire, du cycle TCA, du métabolisme glucidique, de la biosynthèse des acides aminés et de la β -oxydation des acides gras dans le tissu cardiaque humain (Catherine R. Dufour *et al.*, 2007). Ils sont également impliqués dans le contrôle de l'homéostasie ionique et la différenciation des adipocytes et des cellules musculaires.

Plus récemment, il a été montré que les ERRs jouent un rôle dans le processus cancéreux, et plus particulièrement le cancer du sein. Ainsi, l'invalidation par ARN interférents de l'expression d'ERR α dans la lignée épithéliale mammaire cancéreuse MDA-MB-231 diminue le potentiel migratoire des cellules et la capacité à former des tumeurs dans des souris *nude* (Deblois and Giguère, 2011). Cet effet pro-prolifératif d'ERR α semble relayé par le facteur HIF-1 α . En effet, ERR α en favorisant l'expression d'HIF-1 α , induit une augmentation de la glycolyse

anaérobie et favorise l'effet Warburg. Il est bien établi que la grande majorité des cellules cancéreuses effectuent un changement de leur métabolisme énergétique au cours de la tumorigenèse appelé « effet Warburg ». **L'effet Warburg consiste en une augmentation de la glycolyse anaérobie et de la production de lactates en présence d'oxygène.** Cette modification du métabolisme accentue l'acidité du milieu extracellulaire, qui devient plus propice à l'invasion, et à la prolifération cellulaire (Wu and Zhao, 2013). Enfin, une étude réalisée dans une population de femmes américaines, montre que la **surexpression d'ERR α dans les tumeurs mammaires est associée à un pronostic vital défavorable.** En revanche, **l'augmentation de l'expression d'ERR γ est associée à un pronostic vital favorable** (Ariazi *et al.*, 2002).

c. Fonction d'ERR β : apport de la souris KO et des études transcriptomiques chez l'Homme

Les souris **ERR β -/-** décèdent au stade embryonnaire (10.5 jours après la conception). Elles présentent des malformations placentaires et un défaut de différenciation du chorion (Luo *et al.*, 1997, p. 19). Au cours du développement de la souris, ERR β est exprimé uniquement dans les tissus extra-embryonnaires et cela durant une période de temps limitée (entre 5.5 et 8.5 jours après la conception). Ces résultats démontrent qu'ERR β joue un rôle vital dans le développement et la différenciation du placenta chez la souris. Par la suite, l'invalidation conditionnelle d'ERR β dans différents organes de la souris a permis de découvrir d'autres rôles d'ERR β . Ainsi, le KO conditionnel d'ERR β dans le cervelet révèle son rôle important dans le contrôle de la prise alimentaire. Dans ces conditions, les souris transgéniques présentent une masse corporelle inférieure à la normale et une hyperactivité métabolique (Byerly *et al.*, 2013).

Tableau 5 : Rôles des ERRs

	ERRα	ERRβ	ERRγ
Souris KO	-Viable et fertile -Lipogenèse altérée (Luo <i>et al.</i> , 2003)	-Létal stade embryonnaire -Défauts de différenciation placentaire (Luo <i>et al.</i> , 1997)	-Létal quelques heures après la naissance -Défaillance cardiaque (Alaynick <i>et al.</i> , 2007)
Rôles majeurs chez l'Homme	- Homéostasie énergétique cardiaque et musculaire - Homéostasie ionique - Différenciation cellulaire (endomètre, adipocytes, ostéoblastes)	- Horloge métabolique - Prise alimentaire	- Homéostasie énergétique cardiaque et musculaire - Homéostasie ionique Différenciation cellulaire (myocytes, adipocytes)
Expression chez l'Homme	Ubiquitaire +++ Tissus hauts besoins énergétiques (cœur, muscles, rein, SNC)	Restreinte (foie, cœur, muscles, rein, SNC, estomac)	+++ Tissus hauts besoins énergétiques (cœur, muscles, rein, SNC, placenta)

B- ERR γ

1) Structure d'ERR γ

a. Structure du gène *ESRRG*

Le gène *ESRRG* comporte vingt-cinq exons distincts, disposés sur une large région génomique de plus d'1 Mb, situés sur le chromosome 1. Le promoteur du gène *ESRRG* couvre une vaste région d'environ 300 kb. Il comprend 3 îlots CpG situés à proximité du +1 de la transcription. A ce jour, une vingtaine de SNP du gène *ESRRG* ont été décrites dans la population humaine. Cependant, aucune délétion du gène n'a été rapportée dans la population humaine, ce qui suggère l'importance vitale d'ERR γ dans le développement.

L'analyse du promoteur du gène *ESRRG* a été effectuée grâce au logiciel Génomatix (Figure 17). Elle montre la présence de nombreux éléments de réponse potentiels dont plusieurs éléments CRE (cAMP response element), ce qui suggère qu'ERR γ puisse être régulé par la voie de l'AMPc. Le promoteur présente également plusieurs éléments de réponse aux RXRs, ainsi qu'un élément de réponse aux PPARs. Il est donc possible qu'ERR γ soit régulé par les PPARs, ce qui serait en cohérence avec l'importance des ERRs dans l'adipogenèse (Kubo *et al.*, 2009). Le promoteur du gène *ESRRG* présente également un élément de réponse aux ERs, suggérant une régulation par les oestrogènes. De plus, le promoteur d'ERR γ présente aussi des éléments de réponses potentiels pour un facteur pro-différenciant de l'ostéogenèse et la cartilagenèse, Cart-1, renforçant le rôle d'ERR γ dans le contrôle de la différenciation osseuse et du cartilage (Cardelli *et al.*, 2013; Jeong *et al.*, 2009). Enfin, ERR γ possède également plusieurs éléments de réponse putatifs en relation avec la prolifération cellulaire, MAF, AP1, et NR2F. Ces éléments de régulation pourraient être rattachés au rôle d'ERR γ dans le cancer.

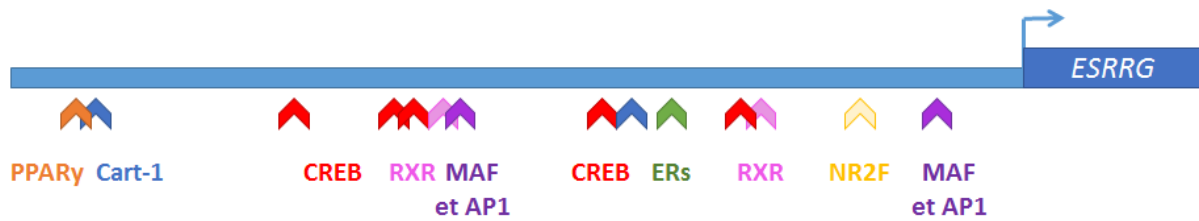


Figure 17 : Eléments de réponse putatifs du promoteur d'ERRγ obtenus grâce au logiciel Genomatix.

Cart-1: Cartilage homeoprotein 1, CREB: cAMP response element-binding protein, RXR: récepteurs aux acides rétinoïques, MAF: V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog, AP1: activator protein-1, ERs: estrogen receptors, PPARγ: peroxisome proliferator-activated receptor-γ, NR2F: Nuclear receptor sub-family 2 factor.

b. Structure de la protéine ERRγ

A ce jour, on connaît 5 isoformes protéiques issues d'un épissage alternatif de plus de 9 variants d'ARNm d'ERRγ (Figure 18). L'isoforme 1, ERRγ-1, est la forme la plus longue, et est considérée comme la forme de référence. Elle est constituée d'une chaîne peptidique de 458 acides aminés. ERRγ-1 représente 30% des isoformes protéiques d'ERRγ dans le cerveau et 45% des isoformes dans le muscle squelettique. De manière intéressante, **ERRγ-1 est l'isoforme majoritairement exprimée dans le placenta (99%)**. ERRγ-2 est une forme plus courte de 23 acides aminés. ERRγ-2 est l'isoforme majoritairement exprimée dans la plupart des tissus. L'isoforme ERRγ-4 diffère de l'isoforme ERRγ-2 par l'épissage supplémentaire d'un exon dans le DBD (Kojo *et al.*, 2006). Selon les publications, elle est aussi dénommée ERRγ-3. En ce qui concerne les isoformes 3 et 5, il s'agit de séquences déduites à partir de banques d'ADN complémentaires, mais dont l'existence n'a pas été prouvée expérimentalement.

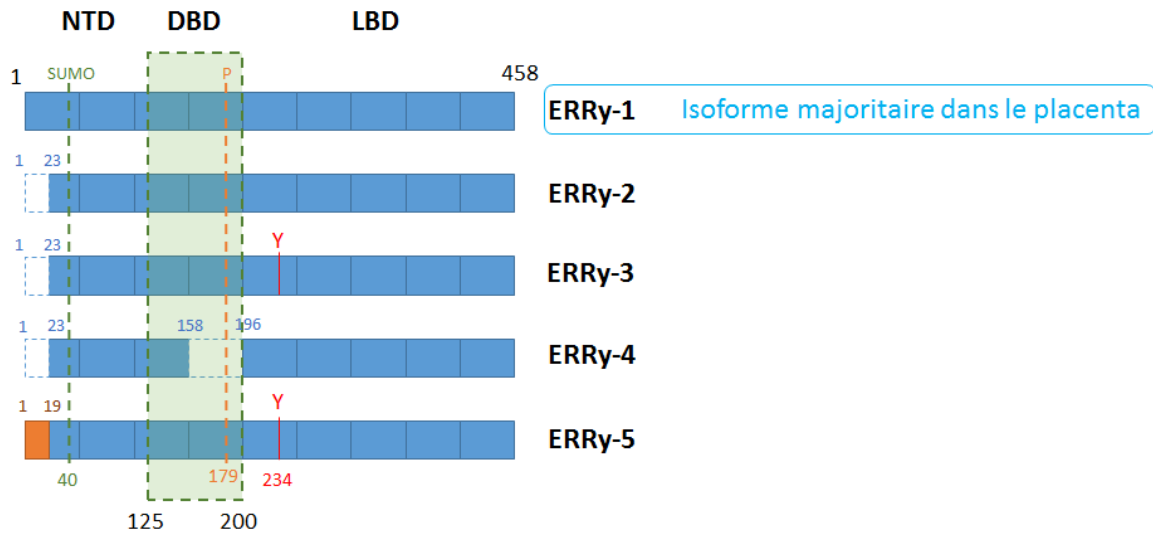


Figure 18 : Structure des isoformes protéiques d'ERRγ.

D'après les informations tirées du site <http://www.uniprot.org/uniprot/P62508>. NTD: domaine N-terminal, LBD: domaine de liaison à l'ADN, LBD: domaine de liaison du ligand, SUMO: site de sumoylation phosphorylation dépendant. P : site de phosphorylation. Y : insertion de 8 acides aminés : LLWSDPAD.

En 2009, Takeda *et al.* ont comparé l'activité transcriptionnelle des isoformes ERRγ-1 et ERRγ-2 par des expériences de gène rapporteur. Ils ont montré que l'isoforme ERRγ-1 présente une activité transcriptionnelle deux fois supérieure à celle d'ERRγ-2 (Takeda *et al.*, 2009).

Deux modifications post-traductionnelles ont été décrites pour la protéine ERRγ (Figure 18). Il existe un site de **sumoylation phosphorylation dépendant** en position 40, localisé dans le domaine N-terminal de la protéine. La sumoylation correspond à l'addition d'un petit peptide **SUMO** (Small Ubiquitin-related MODifier) sur une lysine. Dans le cas où l'ajout du peptide SUMO nécessite une phosphorylation au préalable, on parle de sumoylation phosphorylation dépendante (ici la sérine en position 45). Ce site est conservé entre ERRα et ERRγ. Des expériences de gène rapporteur ont montré que cette sumoylation diminue l'activité transcriptionnelle de ces deux ERRs (Tremblay *et al.*, 2008).

Très récemment, un **site de phosphorylation** d'ERR γ a été décrit chez la souris. Dans ce modèle, les auteurs montrent que l'insuline, via la voie PI3K/Akt, conduit à la phosphorylation de la sérine 179 d'ERR γ . Cette phosphorylation induit l'export nucléaire d'ERR γ , entraînant la suppression de son rôle majeur dans la néoglucogenèse hépatique (Kim *et al.*, 2014).

2) Rôles d'ERR γ

a. Rôle dans l'homéostasie énergétique

Le premier rôle décrit d'ERR γ est celui de régulateur de **l'homéostasie énergétique** dans les tissus avec des besoins énergétiques élevés (le cœur, le muscle et les reins). En effet, les souris ERR γ $-/-$ décèdent d'une anomalie cardiaque moins de 2 jours après la naissance. Elles présentent des anomalies de conduction cardiaque et des malformations ventriculaires. Les cardiomyocytes des animaux ERR γ $-/-$ présentent un contenu anormalement élevé en mitochondries (+ 90% chez les homozygotes) et une fonction mitochondriale altérée. De plus, l'analyse transcriptomique met en évidence une sous-expression générale des gènes du métabolisme lipidique, de la glycolyse et de la phosphorylation oxydative. Mais de façon surprenante, les souris ERR γ $-/-$ ont une glycémie normale. Cependant, elles présentent une acidose lactique importante, suggérant que la glycolyse anaérobie soit privilégiée. Le décès des souris KO est dû à l'incapacité des cellules cardiaques à basculer du catabolisme des glucides vers le catabolisme des lipides (Alaynick *et al.*, 2007). En effet, les glucides sont les substrats énergétiques majoritaires du cœur fœtal. A la naissance, le cœur du nouveau-né privilégie les lipides, qui sont des substrats plus énergétiques (Lehman and Kelly, 2002). Ce changement est contrôlé par les facteurs de transcription PPAR α et ERR γ , en association avec PGC-1 α .

Depuis, le rôle d'ERR γ dans le métabolisme énergétique humain a été largement confirmé. Les analyses d'immunoprécipitation de la chromatine suivi d'un séquençage ont mis en évidence l'implication d'ERR γ et/ou d'ERR α , dans la régulation d'un large réseau de gènes contrôlant le métabolisme énergétique dans le cœur et les muscles squelettiques (Giguère, 2008).

ERR γ est également un **acteur majeur de la biogenèse mitochondriale**. Associé à PGC-1 α , les deux facteurs nucléaires activent l'expression de nombreux gènes mitochondriaux nucléaires, dont TFAM et PGC-1 α lui-même (Huss *et al.*, 2002). De plus, plusieurs équipes ont montré que l'induction de PGC-1 α , *in vitro*, augmente l'expression de plus d'une centaine de gènes codant pour des protéines mitochondriales, parmi lesquels des gènes de la β -oxydation des acides gras, du TCA, de la respiration oxydative et de la machinerie ribosomale mitochondriale. Enfin, l'invalidation *in vitro* par ARN interférent ou l'utilisation d'un antagoniste sélectif d'ERR γ supprime l'expression des gènes de la biogenèse mitochondriale et diminue le contenu mitochondrial (Giguère, 2008; Schreiber *et al.*, 2004). L'ensemble de ces résultats souligne l'importance d'ERR γ dans le contrôle de la biogenèse mitochondriale.

ERR γ est également impliqué dans la régulation de la **néoglucogenèse hépatique**. La néoglucogenèse est la synthèse *de novo* de glucose à partir de substrats carbonés non glucidiques (acides aminés, lactate, glycérol). Chez l'Homme, elle a lieu essentiellement dans le foie, et est inhibée par l'insuline. Le travail d'une équipe coréenne a mis en évidence le rôle d'ERR γ dans le contrôle de cette voie métabolique. Dans un premier temps, les auteurs ont montré dans un modèle de souris diabétiques *db -/-* (déficientes pour le récepteur de la leptine), que l'inhibition de l'activité transcriptionnelle d'ERR γ par le GSK-5182 diminue la néoglucogenèse *in vivo*. Dans un second temps, les auteurs montrent que l'expression d'ERR γ est induite par l'AMPc (en réponse à la forskoline) dans des lignées cellulaires hépatiques 293T

et des hépatocytes de rat en culture primaire. Puis, dans un dernier temps, les auteurs montrent que l'augmentation de l'expression d'ERR γ par l'AMPc conduit à l'expression des gènes de la **néoglucogenèse** (Phosphoénol-pyruvate carboxykinase 1 et Glucose-6-phosphatase) **et la production de glucose** dans ces mêmes modèles cellulaires (Kim *et al.*, 2012). Depuis, la même équipe a démontré dans des hépatocytes de rats et des lignées hépatiques humaines 293T et AML12 que **l'activité d'ERR γ est réprimée par l'insuline**. En effet, l'activation de la voie PI3K/Akt par l'insuline induit la phosphorylation de la sérine 179 d'ERR γ , entraînant sa translocation hors du noyau et l'inhibition de son activité transcriptionnelle. En revanche, en absence d'insuline, ERR γ non phosphorylé est actif et contrôle positivement la néoglucogenèse (Kim *et al.*, 2014).

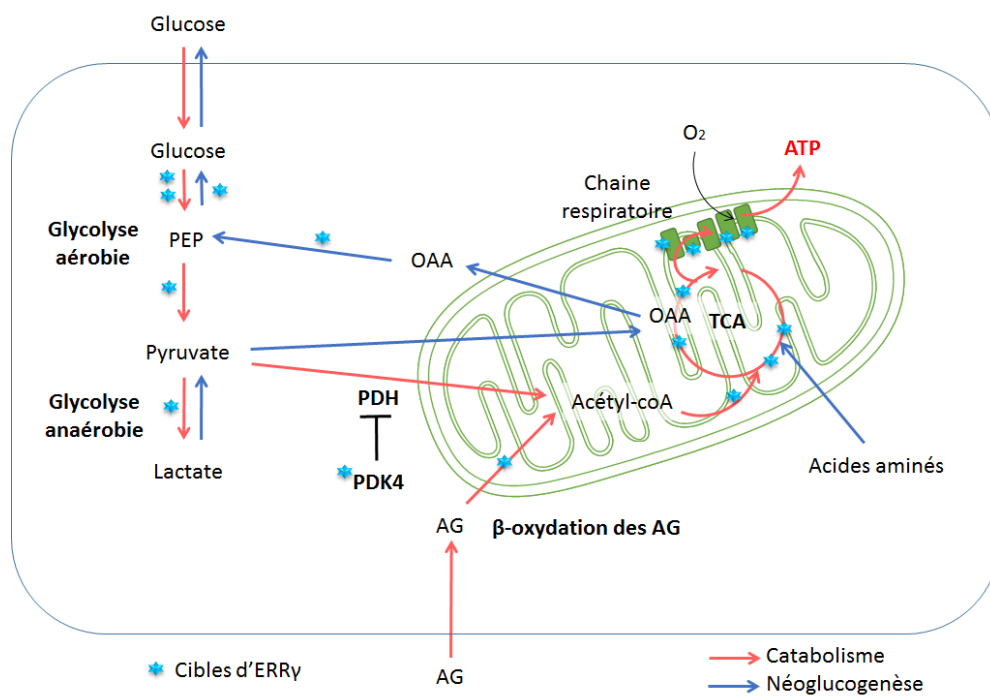


Figure 19 : Implication d'ERR γ dans le métabolisme énergétique.

PEP : phosphoénolpyruvate, OAA : oxaloacétate, PDH : pyruvate deshydrogénase, PDK4 : pyruvate deshydrogénase kinase 4, TCA : cycle des acides tricarboxyliques, AG : acides gras.

b. Rôle dans l'homéostasie ionique

ERR γ joue également un rôle critique dans la régulation des gènes impliqués dans le transport ionique, particulièrement dans le transport des ions potassium K⁺ et sodium Na⁺. Les souris ERR γ -/- présentent une kaliémie faible et une natrémie élevée. En effet, des expériences de patch clamp effectuées sur des cellules cardiaques de souris ERR γ -/- révèlent que l'activité des transporteurs d'ions Na⁺ est très diminuée par comparaison aux cellules de souris contrôles (Alaynick *et al.*, 2007). L'étude du transcriptome du cœur, de l'estomac et du rein de souris ERR γ -/- et contrôles montre qu'ERR γ régule l'expression de gènes clés de **l'homéostasie ionique**. De plus, les gènes KCNE2 (codant pour un transporteur d'ions potassium) et ATP4 (codant pour la sous-unité de l'ATP synthase 4), sont directement régulés par la liaison d'ERR γ sur un ERRE dans leur promoteur respectif (Alaynick *et al.*, 2010).

Par la suite, Luo *et al.* ont montré, en utilisant des techniques d'inactivation par ARN interférents dans des cultures primaires de trophoblaste villos, qu'ERR γ contrôle l'expression de plusieurs gènes codant pour des canaux potassiques voltage dépendant. De plus, le blocage de ces canaux par un inhibiteur spécifique bloque la fusion trophoblastique (Luo *et al.*, 2013). Enfin, une étude récente de ces mêmes auteurs, suggère que les défauts placentaires observés dans les grossesses PE pourraient être dus à une surexpression d'ERR γ , entraînant par la suite un dysfonctionnement des canaux K⁺ et un syndrome hypertensif (Luo *et al.*, 2014).

c. Rôle d'ERR γ dans le cancer

Contrairement à ERR α , l'expression d'ERR γ semble avoir un effet protecteur dans le cancer du sein. Dans les cellules mammaires cancéreuses humaines BT-474, ERR γ favorise le métabolisme oxydatif en activant l'expression de nombreux gènes du TCA et de la respiration mitochondriale. ERR γ semble donc limiter l'effet Warburg et par conséquent, la progression

tumorale. De plus, le niveau d'expression d'ERR γ pourrait être associé au degré de gravité de la tumeur mammaire. En effet, la même étude a montré une corrélation positive de l'expression du microARN miR-378* avec le degré de gravité de la tumeur. Ce microARN inhibe l'expression d'ERR γ , et par conséquent, pourrait supprimer son effet protecteur dans les tumeurs mammaires. (Eichner *et al.*, 2010). **ERR γ est aujourd'hui considéré comme un marqueur de pronostic favorable dans les cancers du sein.**

Cependant, l'effet protecteur d'ERR γ n'est pas toujours une constante. En effet, l'activation transcriptionnelle d'ERR γ par son agoniste sélectif, le DY131, augmente la prolifération des cellules de la lignée U87MG, issue d'une tumeur cérébrale (Gandhari *et al.*, 2010). De même, une autre étude montre qu'ERR γ favorise l'effet Warburg et la prolifération des cellules épithéliales mammaires cancéreuses MCF7 (Cai *et al.*, 2013).

L'effet protecteur d'ERR γ dans le processus de cancérisation pourrait être lié à une autre fonction d'ERR γ : la différenciation cellulaire.

d. Rôle d'ERR γ dans la différenciation cellulaire

ERR γ est également impliqué dans la différenciation cellulaire. Dans certains tissus, cet effet pro-différenciant semble médié par les micros ARNs.

Ainsi, ERR γ favorise la **différenciation des myocytes** en fibres musculaires squelettiques (Murray *et al.*, 2013). En effet, l'étude des souris transgéniques surexprimant ERR γ spécifiquement dans le muscle squelettique montre qu'ERR γ favorise la différenciation des fibres musculaires présentant un métabolisme oxydatif. En revanche, ERR γ réduit celle des fibres musculaires présentant un métabolisme anaérobie. De plus, dans ce modèle transgénique, ERR γ accélère la réparation tissulaire et l'angiogenèse après un accident vasculaire, en modulant l'expression de plusieurs facteurs angiogéniques tel que VEGF α

(Matsakas *et al.*, 2012). Enfin, deux études montrent que le rôle d'ERR γ dans la différenciation des cellules musculaires murines est médié par l'expression de miARN spécifiques de la différenciation musculaire tels que miR-206, miR-499 et miR-208b (Gan *et al.*, 2013; Song and Wang, 2009).

ERR γ est également impliqué dans la **différenciation des adipocytes blancs ou adipogenèse**. L'inactivation d'ERR γ par ARN interférents, dans les cellules de la lignée préadipocytaire 3T3-L1, diminue l'expression de facteurs clés de l'adipogenèse. Inversement, la surexpression d'ERR γ dans les cellules 3T3-L1 induit l'expression des gènes de l'adipogenèse, tels que AP2 (fatty acid binding protein-2), PPAR γ et PGC-1 β (Kubo *et al.*, 2009). Il a également été observé, chez la souris et le rat exposés au froid afin d'induire la **différenciation du tissu adipeux brun**, que l'expression d'ERR γ est augmentée dans ce tissu. De plus, l'expression d'ERR γ est augmentée au cours de la différenciation, *in vitro*, des préadipocytes bruns murins. Dans ce modèle, l'inhibition d'ERR γ par le 4-OH tamoxifène réduit l'expression d'un marqueur de la différenciation adipocytaire, la protéine découplante UCP1. Inversement, la surexpression d'ERR γ augmente l'expression d'UCP1 dans des fibroblastes embryonnaires de souris Rb -/- (Dixen *et al.*, 2013).

Enfin, ERR γ est impliqué dans la **différenciation osseuse**. Dans un modèle d'ostéoblastes maintenus en culture primaire et dans la lignée cellulaire ostéoblastique C2C12, des chercheurs démontrent que la surexpression d'ERR γ réprime la différenciation ostéoblastique en contrôlant l'expression du gène BMP2 (bone morphogenetic protein 2). Inversement, l'inhibition de l'expression d'ERR γ par ARN interférent favorise la différenciation ostéoblastique (Jeong *et al.*, 2009). Une récente étude a complété ces résultats en démontrant, dans la lignée cellulaire ostéoblastique C3H10T1/2, que la protéine BMP2

réprime directement l'expression d'ERR γ , permettant ainsi la différenciation osseuse. De plus, il semble que l'effet inhibiteur d'ERR γ soit médié par l'activation de l'expression du micro ARN miR-433 (Kim *et al.*, 2013).

Une étude utilisant un modèle de souris transgénique surexprimant l'isoforme ERR γ -2 spécifiquement dans les chondrocytes, met en évidence le rôle d'ERR γ dans la **mise en place du cartilage**. Plus précisément, la surexpression d'ERR γ -2 stimule la prolifération des chondrocytes et la production de matrice extra-cellulaire (Cardelli *et al.*, 2013). Le rôle d'ERR γ dans le **développement du squelette** est renforcé par une étude qui montre l'association d'un polymorphisme d'ERR γ (Rs945453) avec un risque plus élevé d'ostéoporose chez les femmes canadiennes (Karimi *et al.*, 2013).

e. Rôle d'ERR γ dans la stéroïdogénèse

Un dernier rôle d'ERR γ a été décrit. Il s'agit du contrôle de la **stéroïdogénèse**. Plusieurs études ont montré qu'ERR γ active l'expression du gène *hCYP19L1*. Le gène ***hCYP19L1* code pour une sous-unité de l'aromatase, une enzyme clé de la biosynthèse des œstrogènes**. L'aromatase assure la conversion de l'androstènedione en estrone et de la testostérone en oestradiol. Ainsi, dans un modèle de culture primaire de CTVs humain, l'équipe de Kumar et Mendelson a mis en évidence en 2011 que l'inactivation de l'expression d'ERR γ par ARN interférents, et/ou l'activation par un agoniste spécifique (le DY131), réprime et/ou induit respectivement l'expression d'*hCYP19L1*. Par des expériences de gène rapporteur, les auteurs ont également montré dans des cellules JEG-3 que l'expression du gène *hCYP19L1* est spécifiquement induite par la fixation d'ERR γ sur son promoteur. En revanche, l'activation du gène *hCYP19L1* n'a pas lieu en présence d'ERR α ou d'ERR β (Kumar and Mendelson, 2011).

3) Régulation d'ERR γ

L'expression d'ERR γ est finement régulée par des acteurs variés. La régulation d'ERR γ intervient à différents niveaux : le contrôle de la transcription du gène *ESRRG* et le contrôle de la stabilité de l'ARNm d'ERR γ (Figure 18), la régulation de l'activité transcriptionnelle, de la stabilité et de la localisation nucléaire de la protéine ERR γ (Figure 19).

a. Régulation spatio-temporelle

Chez l'Homme, ERR γ est fortement exprimé au stade embryonnaire dans le cerveau et à moindre niveau dans les reins, les poumons et le foie. Chez l'adulte, ERR γ est fortement exprimé dans le cerveau, le muscle squelettique, le cœur, les reins, le pancréas et **le placenta**. Il est plus faiblement exprimé dans la prostate, la rate, les testicules et l'intestin grêle (Eudy *et al.*, 1998; Heard *et al.*, 2000). De manière générale, **les ERRs sont fortement exprimés dans les tissus à hauts besoins énergétiques**.

b. Régulation circadienne

Les ERRs présentent également une **expression circadienne** dans plusieurs tissus. Une étude transcriptomique effectuée chez la souris en 2006 montre qu'ERR γ suit une expression circadienne uniquement dans le foie et le tissu adipeux brun. Dans ces tissus, l'expression d'ERR γ est plus élevée dans la journée (Yang *et al.*, 2006).

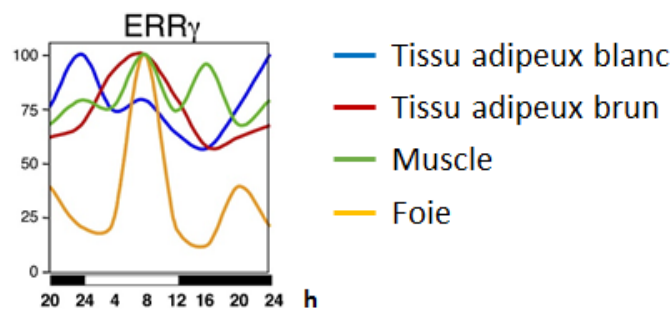


Figure 20 : Régulation circadienne d'ERR γ dans différents organes de la souris. D'après Yang *et al.* 2006.

c. Régulation par le statut énergétique de la cellule

L'expression et l'activité transcriptionnelle d'ERRy sont modulées par différents acteurs dépendants du statut énergétique de la cellule :

- **Régulation par PGC-1 α / β**

PGC-1 α et PGC-1 β sont les co-activateurs privilégiés des ERRs. Il sont parfois même nommés « les ligands des ERRs » (Devarakonda *et al.*, 2011; Huss *et al.*, 2002). **L'expression de PGC-1 α / β est directement liée au statut énergétique cellulaire.** En effet, dans le muscle, son expression est augmentée à la suite d'un stress thermique ou d'un stress oxydatif ou de l'activation de la voie de l'AMPc, directement dépendante du ratio ATP/AMP (Kim *et al.*, 2014; Louet *et al.*, 2002). En revanche, l'expression de PGC-1 α est réduite suite à l'activation de la voie PI3K par l'insuline dans les adipocytes de rats (Corton and Brown-Borg, 2005; Jiang *et al.*, 2013).

- **Régulation par les PPARs**

Les peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) constitue une famille de facteurs de transcription très impliquée dans le métabolisme des lipides et dans la différenciation cellulaire. En effet, ils sont les acteurs majeurs de l'adipogenèse. Leur activité dépend de leur association avec le facteur de transcription RXR. Les PPARs comptent trois membres : PPAR α , PPAR β / δ et PPAR γ qui sont tous exprimés dans le placenta (Fournier *et al.*, 2007).

Une première étude montre que les souris transgéniques hétérozygotes PPAR α +/- et SIRT1 +/- présentent une dérégulation de l'expression des ERRs et de leurs gènes cibles impliqués dans le métabolisme énergétique. Par des expériences de gène rapporteur et d'immunoprécipitation de la chromatine, les auteurs démontrent que **PPAR α inhibe directement l'expression d'ERRy** en se liant sur des éléments de réponse PPRE et inhibe

directement l'activité transcriptionnelle d'ERR γ dans des cultures primaires de myocytes murins (Oka *et al.*, 2012). Une deuxième étude, utilisant des souris transgéniques surexprimant les gènes de PPAR α et de PPAR β/δ spécifiquement dans les muscles squelettiques, montre que **PPAR β/δ active l'expression du gène d'ERR γ** dans les myocytes murins en culture. Ils ont également confirmé cette régulation positive dans des myocytes humains issus de biopsies musculaires (Gan *et al.*, 2013). Il semble donc que la régulation d'ERR γ soit spécifique de chaque isoforme de PPAR.

- Régulation par SIRT1

SIRT1 (ou sirtuine 1) est une déacétylase NAD⁺ dépendante. SIRT1 est active lorsque le ratio ATP/AMP est faible et est classiquement activée au cours du jeûne. Son rôle dans la régulation de l'expression d'ERR γ est particulièrement complexe, et dépend de la protéine avec laquelle elle s'associe.

D'une part, dans le foie et le muscle, lorsque **SIRT1 est associée à PGC-1 α** , elle favorise l'activité de PGC-1 α , ce qui conduit à **une augmentation de l'activité d'ERR γ** (Rodgers *et al.*, 2008). De même, SIRT1 favorise l'activité de PPAR β/δ et par conséquent, l'expression d'ERR γ dans le muscle cardiaque (Gillum *et al.*, 2010).

Les souris surexprimant SIRT1 et PPAR α présentent une défaillance cardiaque liée à la diminution de l'expression et de l'activité transcriptionnelle d'ERR γ . Les auteurs ont mis en évidence que cette inactivation est due à l'association de **SIRT1 avec PPAR α** , (Oka *et al.*, 2012).

Enfin, lorsque **SIRT1 est associé au co-facteur SMILE** (small heterodimer partner interacting leucine zipper protein), elle inhibe la transactivation d'ERR γ dans des cellules cancéreuses hépatiques HepG2 (Xie *et al.*, 2009).

- **Régulation par l'insuline**

Une étude récente a mis en évidence, dans les hépatocytes de rats et dans les cellules des lignées 293T et AML12, que l'insuline inhibe l'activité transcriptionnelle d'ERR γ . Cet effet inhibiteur est médié par la voie PI3K/Akt, responsable de la phosphorylation d'ERR γ . Cette phosphorylation entraîne la translocation d'ERR γ du noyau vers le cytoplasme et la suppression de son activité transcriptionnelle (Kim *et al.*, 2014). L'insuline inhibe également l'expression de PGC-1 α , le coactivateur privilégié d'ERR γ dans les adipocytes de rat (Jiang *et al.*, 2013). L'ensemble de ces résultats démontre clairement que **l'insuline exerce des effets inhibiteurs sur l'activité d'ERR γ .**

- **Régulation par les ERRs**

Le promoteur d'ERR γ est directement régulé par ERR α (Huppunen and Aarnisalo, 2004). De plus, les trois ERRs forment des hétérodimères capables de moduler leur activité, comme nous l'avons décrit précédemment (Giguère, 2008).

d. Régulation par l'oxygène

L'oxygène est un régulateur de l'activité d'ERR γ . Cependant, son **effet semble être dépendant du tissu considéré**. Des expériences de gène rapporteur réalisées dans les cellules de la lignée hépatique humaine HepG2, montrent que **l'hypoxie induit l'expression d'ERR γ via le facteur HIF-1 α** . De plus, cette étude montre qu'HIF-1 α , en s'associant à ERR γ , est capable d'activer l'expression de gènes cibles de la glycolyse anaérobie tels que l'enzyme PDK4 (Lee *et al.*, 2012, p. 4). En revanche, dans le **placenta humain, l'hypoxie inhibe l'expression d'ERR γ** . Des expériences de gène rapporteur montrent qu'HIF-1 α se fixe sur un HRE situé en amont du promoteur d'ERR γ et diminue son expression dans des cultures primaires de trophoblastes humains (Kumar and Mendelson, 2011).

e. Régulation par le stress cellulaire

- **Stress du réticulum endoplasmique (RE)**

ERR γ est également impliqué dans la **réponse au stress du RE**. Son expression est activée par le facteur de transcription **ATF6** (Activating transcription factor 6), qui est lui-même activé suite à un stress du RE. ERR γ active alors l'expression de différents gènes cibles, dont ATF6 lui-même, amplifiant de ce fait la réponse au stress du RE (Misra *et al.*, 2013).

- **Stress mitochondrial**

L'activité transcriptionnelle d'ERR γ est dépendante du statut mitochondrial. En effet, la stabilité de la protéine ERR γ est sous le contrôle de la **parkine**. Cette ubiquitine ligase intervient dans le processus de dégradation des protéines par la voie du protéasome. Son action est dépendante de la présence d'un **gradient électrochimique mitochondrial**. La parkine est impliquée dans le recyclage des protéines, la biogenèse mitochondriale et la mitophagie des mitochondries anormales. Son activité ubiquitine-ligase est réprimée par le stress mitochondrial. Dans ces conditions, l'adressage d'ERR γ au protéasome est inhibé. ERR γ stabilisé, il peut activer l'expression de ses gènes cibles et favoriser le renouvellement des mitochondries (Ren *et al.*, 2011).

De plus, **l'activité transcriptionnelle d'ERR γ est augmentée suite à l'augmentation du taux de calcium intracellulaire.** L'augmentation du calcium intracellulaire est une des conséquences d'un stress mitochondrial. Ce signal intra-cellulaire induit l'association de la protéine Ca²⁺ dépendante appelée Calmoduline avec ERR γ . Leur association permet d'augmenter l'activité transcriptionnelle d'ERR γ et de favoriser la biogenèse mitochondriale (Hentschke *et al.*, 2005).

f. Régulation par l'angiogénine

L'angiogénine est une hormone de 14 kDa connue pour favoriser le processus de coagulation. Cependant, dans certaines circonstances, l'angiogénine peut être endocytée, transloquée dans le noyau, et jouer le rôle d'un facteur de transcription (Sadagopan *et al.*, 2009). Une récente étude montre par des expériences de gène rapporteur que l'angiogénine réprime l'expression d'ERR γ dans les lignées cellulaires cancéreuses HeLa et MCF7. Des expériences d'immunoprécipitation de la chromatine montrent que cet effet inhibiteur est lié à la fixation de l'angiogénine sur des éléments de réponse ABSE (ANG-Binding Sequence within ERR γ) situés dans le promoteur du gène *ESRRG* (Ang *et al.*, 2013).

g. Régulation par les microARNs

A ce jour, deux micro-ARNs ont été décrits comme des régulateurs de l'expression d'ERR γ . Il s'agit de **miR-378*** et de **miR-205**. L'expression de **miR-378*** et de **miR-205** est induite dans les cellules cancéreuses par la voie Erb2. Une étude effectuée en 2010 a démontré qu'ERR γ est la cible du **miR-378*** dans les cellules cancéreuses mammaires BT-474. La sous-expression d'ERR γ est associée à une augmentation de la prolifération cellulaire (Eichner *et al.*, 2010). De la même manière, une étude montre que miR-205 réprime l'expression d'ERR γ dans des cellules endométriales cancéreuses Ishikawa (Wan, 2013).

h. Autres régulations

La protéine **GNL3L** (guanine nucleotide binding protein-like 3) est un facteur de transcription qui participe au maintien du statut indifférencié des cellules. Elle est particulièrement exprimée dans les cellules souches indifférenciées. Il a été montré que ce facteur réprime l'activité d'ERR γ par compétition de liaison sur un élément de réponse ERRE (Yasumoto *et al.*, 2007).

Enfin, le co-répresseur **SHP** (small heterodimer partner) est un récepteur nucléaire orphelin qui se lie à ERR γ sur son domaine AF2. Cette association inhibe l'activité transcriptionnelle d'ERR γ par compétition avec le co-activateur SRC dans les lignées HeLa et HEK293 (Sanyal *et al.*, 2002).

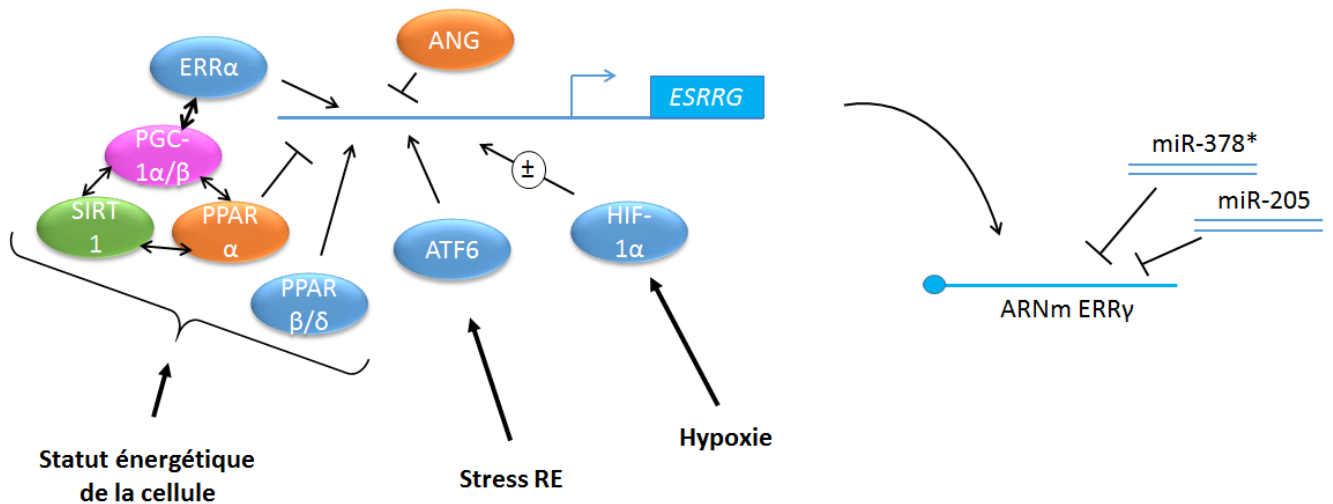


Figure 21 : Régulation de l'expression d'ERRγ.

ERRα/γ: estrogen related receptor α/γ, PPARα, β/δ: peroxisome proliferator activator receptor α,β/δ, PGC-1α/β: PPAR coactivator-1α/β, SIRT1: sirtuine 1, ATF6: Activating transcription factor 6, ANG: angiogénine, HIF-1α: hypoxia inducible factor-1α.

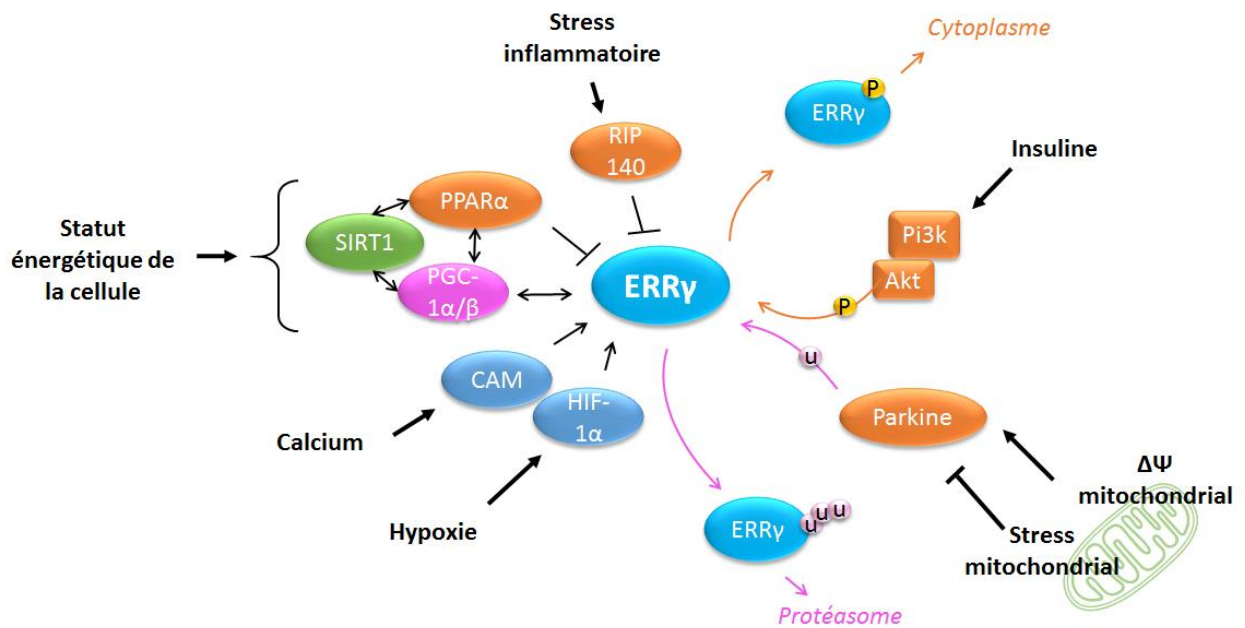


Figure 22 : Régulation de l'activité d'ERRγ.

ERRα/γ: estrogen related receptor α/γ, PPARα,β/δ: peroxisome proliferator activator receptor α,β/δ, PGC-1α/β: PPAR coactivator-1α/β, SIRT1: sirtuine 1, HIF-1α: hypoxia inducible factor-1α, CAM: calmoduline, PI3K/Akt : Phosphoinositide-3-kinase/Akt.

C- ERRy et le placenta humain

En 2005, Fujimoto *et al.* décrit la présence des ARNm codant pour les ERs et les ERRs dans le placenta humain. Cette étude montre également que l'expression des ARNm des ERs et des ERRs augmente au cours de la grossesse (Fujimoto *et al.*, 2005).

Les travaux de Takeda *et al.* ont confirmé la présence d'ERRy dans le placenta humain, à un niveau dix fois supérieur aux autres organes reproducteurs. Ils montrent également que le taux d'expression de la protéine et de l'ARNm d'ERRy est similaire à ceux observés dans les tissus à haut besoins énergétiques tels que les muscles, le cœur et les reins. De plus, ce travail détaille l'expression des différentes isoformes protéiques d'ERRy dans ces différents tissus. Notamment, elle montre que l'isoforme ERRy-1, la plus active transcriptionnellement, est l'isoforme majoritaire dans le placenta (98%) (Takeda *et al.*, 2009).

Enfin, une étude menée au laboratoire s'est intéressée au rôle d'ERRy dans les cellules trophoblastiques exposées au BPA. Le BPA est un perturbateur endocrinien et un agoniste d'ERRy. Cette étude montre dans un premier temps, que la lignée trophoblastique humaine JEG-3 exprime ERRy. Dans un deuxième temps, les auteurs ont mis en évidence que l'addition de BPA réduit la prolifération et augmente l'apoptose des cellules JEG-3. Enfin, l'invalidation de l'expression d'ERRy par ARN interférents inhibe l'effet antiprolifératif du BPA, renforçant l'importance d'ERRy dans le contrôle de la prolifération cellulaire trophoblastique (Morice *et al.*, 2011).

L'ensemble de ces études suggère que le facteur transcriptionnel ERRy pourrait jouer un rôle important dans le placenta humain.

IV- Les objectifs de travail

Comme il l'a été décrit dans les chapitres précédents, le développement correct du placenta est capital pour le bon développement de la grossesse. La perturbation des phénomènes physiologiques tels que l'invasion et la syncytialisation trophoblastiques peut entraîner des pathologies graves de la grossesse pour la mère et le fœtus. Il est donc particulièrement important de comprendre les mécanismes moléculaires qui contrôlent les fonctions trophoblastiques mises en jeu au cours de l'implantation embryonnaire.

Dans ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés à un facteur de transcription, ERR γ , dont l'expression est particulièrement élevée dans le placenta humain, mais dont les fonctions dans le placenta étaient inconnues à ce jour.

Dans un premier temps, nous avons cherché à caractériser l'expression d'ERR γ dans les différents types cellulaires du placenta humain et au cours de différents stades de la grossesse. Nous avons également étudié le rôle d'ERR γ dans le contrôle du métabolisme énergétique du placenta.

Dans un second temps, nous avons étudié le rôle d'ERR γ dans le contrôle de la différenciation des CTVs. Des travaux très récents démontrant le rôle clé des mitochondries dans le processus de différenciation cellulaire, nous ont conduits à préciser l'implication de ces organites dans la différenciation trophoblastique.

Enfin, dans un dernier temps, nous avons comparé l'expression d'ERR γ et le contenu mitochondrial dans les placentas humains contrôles et pathologiques (RCIU associé ou non à la PE).

Résultats

I- Etat des lieux

Afin de déterminer le modèle le plus adapté pour étudier les fonctions d'ERR γ *in vitro*, nous avons mesuré l'expression d'ERR γ dans différentes lignées cellulaires trophoblastiques et des cultures primaires de placenta humain. Nous disposons au laboratoire de trois lignées cellulaires trophoblastiques, les cellules JEG-3, BeWo et HTR-8/SVneo. Les cellules JEG-3 et BeWo sont des lignées choriocarcinomateuses établies à partir de tumeurs placentaire. Les cellules BeWo et JEG-3 ont la capacité de sécréter de l'hCG en présence d'analogues non métabolisables de l'AMPc ou de forskoline. Les cellules BeWo ont la capacité supplémentaire de fusionner en présence de ces mêmes agents, ce qui en fait un bon modèle pour l'étude de la différenciation trophoblastique. Les cellules trophoblastiques HTR-8/SVneo sont des cellules issues de trophoblastes extra-villeux humains non cancéreux et immortalisées par le virus SV-40. Leurs propriétés invasives en fait un bon modèle pour l'étude de l'invasion trophoblastique.

Nous avons donc étudié l'expression d'ERR γ , d'ERR β et des récepteurs aux oestrogènes ER α et ER β dans ces différentes lignées ainsi que dans des CTVs issus de placentas humains de 1^{er} trimestre. Nous nous sommes intéressés à l'expression d'ERR β car il a un rôle primordial dans la placentation de la souris (Luo *et al.*, 1997).

Nous observons dans la figure 23 qu'ER α et ER β sont faiblement exprimés dans les trois modèles de lignées BeWo, JEG-3 et HTR-8/SVneo par comparaison aux cultures primaires de CTVs issus de placentas de 1^{er} trimestre (Figure 23 A et B). Nous montrons qu'ERR β est plus faiblement exprimé dans les lignées JEG-3 et BeWo que dans les cellules HTR-8/SVneo et les CTVs (Figure 23 C). Enfin, nous observons que l'expression d'ERR γ est très faible dans les trois modèles de lignées par comparaison aux CTVs (Figure 23 D).

Par ailleurs, nous constatons qu'ERR γ est nettement plus exprimé qu'ERR β dans les CTVs, ce qui renforce l'idée qu'ERR γ puisse jouer un rôle dans le développement du placenta humain (Figure 23 C et D).

Enfin, nous avons comparé l'expression de quelques gènes cibles d'ERR γ (PPAR γ , MCAD, PDK4 et PGC-1 α) dans les CTVs isolés et les cellules BeWo (Figure 24). A l'exception de PPAR γ , dont l'expression semble en quantité équivalente entre les CTVs et les cellules BeWo, nous observons une différence d'expression des autres gènes cibles entre les deux modèles cellulaires. L'expression de MCAD et de PGC-1 α sont surexprimées dans le modèle BeWo par comparaison au CTVs. En revanche, l'expression de PDK4 n'est pas détectable dans les cellules BeWo. **L'ensemble de ces résultats nous a conduit à privilégier la culture primaire de CTVs comme modèle d'étude pour la suite de notre travail.**

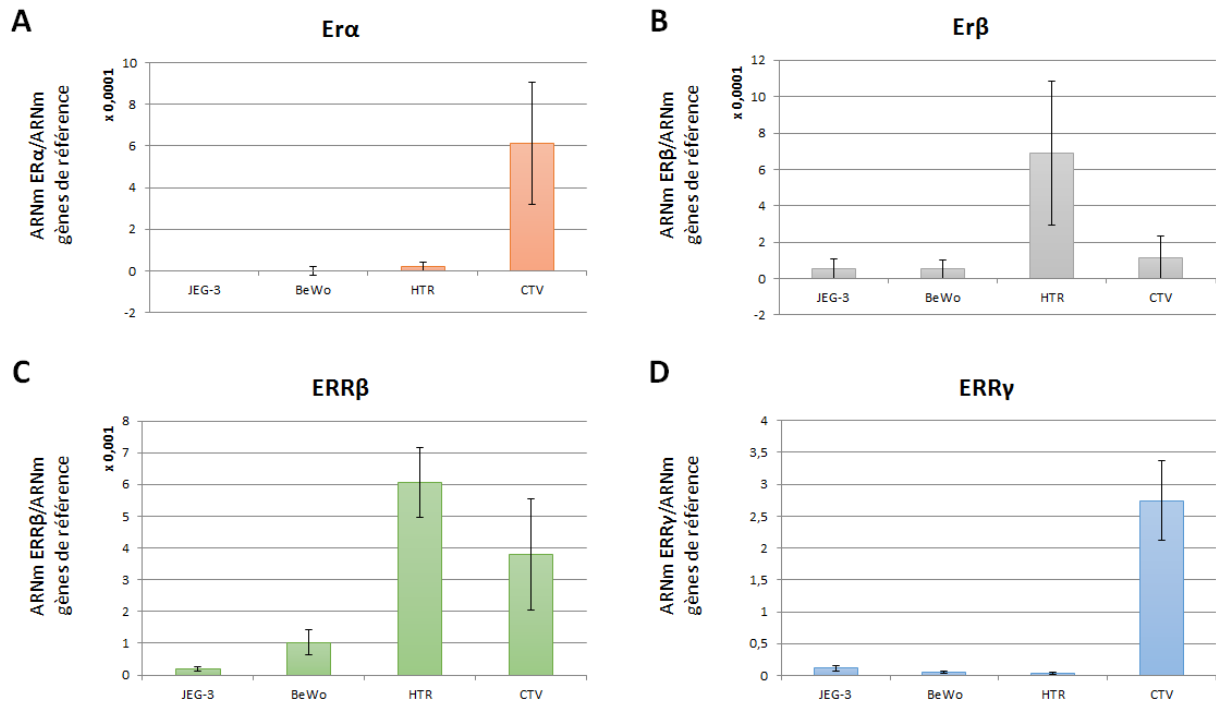


Figure 23 : Expression des ARNm des récepteurs aux œstrogènes ERα et ERβ, et des récepteurs apparentés aux récepteurs aux œstrogènes ERRβ et ERRγ dans différents modèles cellulaires trophoblastiques. (JEG-3) cellules JEG-3 cultivées 24h dans du DMEM en présence de 10% sérum de veau fœtal (SVF) (n=5), (BeWo) cellules BeWo cultivées 24h dans du DMEM-F12 en présence de 10% SVF (n=5), (HTR) cellules HTR8-SV/neo cultivées 24h dans du RPMI en présence de 10% SVF et (CTV) CTVs primaires isolés à partir de placentas de 1^{er} trimestre cultivés 24h dans du DMEM-F12 en présence de 10% SVF (n=5).

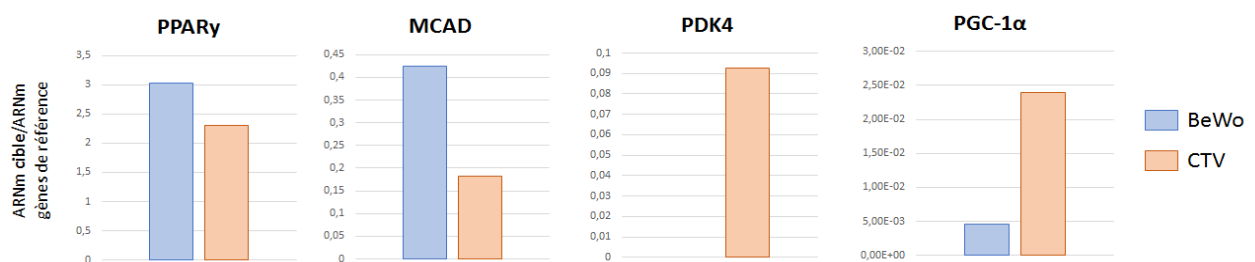


Figure 24 : Expression des ARNm de PPARγ, MCAD, PDK4 et PGC-1α, gènes cibles d'ERRγ, dans les cellules BeWo et les cultures primaires de CTVs : (n=2).

II- Article I

A- Introduction

L'implantation embryonnaire et la formation du placenta sont les deux étapes limitant le bon déroulement de la grossesse. Dans le placenta humain, les cellules trophoblastiques peuvent emprunter deux voies de différenciation conduisant, soit au type vilieux (CTV), soit au type extra-vilieux (CTEV). Le premier type cellulaire, les CTVs, fusionne pour donner naissance au syncytiotrophoblaste (ST), responsable des échanges fœto-maternels. De plus, le ST est le site endocrine de la villosité placentaire sécrétant les hormones placentaires (hCG, leptine). Pour leur part, les CTEVs migrent dans la muqueuse utérine et colonisent les artères spiralées maternelles, de manière à augmenter l'afflux sanguin et à pourvoir aux besoins nutritionnels du fœtus. Afin d'assurer l'ensemble de ses fonctions, le placenta nécessite un métabolisme énergétique adapté et très intense. Des altérations du métabolisme énergétique placentaire sont d'ailleurs associées à des retards de croissance intra-utérin et des prééclampsies (Bartha *et al.*, 2012; Battistelli *et al.*, 2004; Gemma *et al.*, 2006; Gibson *et al.*, 2008; Illsinger *et al.*, 2010; Mandò *et al.*, 2014).

Le facteur de transcription ERR γ est décrit comme un acteur majeur du métabolisme énergétique et de la biogenèse mitochondriale dans les tissus présentant de hauts besoins énergétiques tels que le cœur, les muscles et les reins (Eichner and Giguère, 2011; Rangwala *et al.*, 2010). Par ailleurs, une étude récente a montré que le placenta exprime à des taux très importants l'isoforme protéique ERR γ -1, qui correspond à l'isoforme la plus active d'ERR γ (Takeda *et al.*, 2009).

Dans ce contexte où la caractérisation et les fonctions d'ERRy ne sont pas clairement définies dans le placenta, nous avons d'une part, étudié l'expression placentaire d'ERRy au cours de la grossesse et de la différenciation trophoblastique. D'autre part, nous avons tenté de déterminer le rôle d'ERRy dans le contrôle du métabolisme énergétique des cytotrophoblastes issus de placenta de 1^{er} trimestre.

B- Résultats et discussion

Dans un premier temps, nous avons étudié l'expression d'ERRy dans le placenta humain au cours de la grossesse. Nos expériences de RT-PCR quantitative en temps réel et d'immunoblot montrent que l'expression d'ERRy augmente progressivement entre le 1^{er} et le 3^{ème} trimestre de la grossesse. Les expériences d'immunohistochimie effectuées sur des coupes de placenta humain révèlent également qu'ERRy est spécifiquement exprimé dans les cellules trophoblastiques au 1^{er} trimestre de grossesse, et que cette expression s'étend au mésenchyme au 3^{ème} trimestre. Nous avons également démontré que: i) l'expression d'ERRy est plus élevée dans les CTVs comparée à celle des CTEVs dans le placenta de 1^{er} trimestre et ii) l'expression d'ERRy augmente au cours de la syncytialisation *in vitro* des CTVs, mais également dans les cellules BeWo après traitement par la forskoline, inducteur de la production d'AMPc. Ces résultats suggèrent un rôle potentiel d'ERRy dans le processus de différenciation trophoblastique. En effet, il a été montré qu'ERRy augmente l'expression de l'aromatase, et donc la production d'oestrogènes dans le ST (Kumar and Mendelson, 2011). Cette étude suggère qu'ERRy pourrait contrôler la différenciation trophoblastique en stimulant la production hormonale du ST.

Dans un deuxième temps, afin de préciser les fonctions d'ERRy dans le CTV issu de placenta de 1^{er} trimestre de grossesse, nous avons réalisé des expériences d'inactivation d'ERRy par

ARN interférents. Pour cela, il a été nécessaire de mettre au point les conditions d'invalidations. Nous sommes parvenus à une extinction de 53% de l'expression des ARNm d'ERRy après 48 heures de culture.

Une fois ces conditions déterminées, nous avons étudié les effets de l'invalidation d'ERRy i) sur la biogenèse mitochondriale (ADN mitochondrial et expression de deux marqueurs majeurs de la biogenèse mitochondriale PGC-1 α et NRF1) et ii) sur l'expression de quelques gènes cibles connus d'ERRy : PPARy, qui est un régulateur nucléaire central du métabolisme lipidique, PDK4, qui inhibe l'oxydation du glucose en phosphorylant la PDH, et MCAD, qui est une enzyme clé de la β -oxydation des acides gras. Nos résultats montrent que l'invalidation d'ERRy entraîne à la fois une diminution de l'ADN mitochondrial et de l'expression de PGC-1 α et NRF1. De plus, l'invalidation d'ERRy diminue également l'expression de deux enzymes du métabolisme énergétique PDK4 et MCAD, mais ne modifie pas significativement l'expression de PPARy.

En conclusion, le placenta représente un nouvel exemple de tissu où ERRy contrôle la biogenèse mitochondriale et le métabolisme glucidique et lipidique. Nous avons poursuivi notre travail de thèse afin de déterminer plus précisément le rôle d'ERRy dans le métabolisme énergétique du placenta. Ainsi, l'expression précoce d'ERRy dans le trophoblaste issu de placenta de 1^{er} trimestre, associée à une activité métabolique et une biogenèse mitochondriale augmentée, pourrait expliquer, du moins en partie, l'adaptation du placenta aux changements environnementaux qui interviennent au cours de la grossesse, et plus particulièrement, l'arrivée de l'oxygène au cours du 1^{er} trimestre de grossesse.

III- Article 2

A- Introduction

La différenciation trophoblastique, ou syncytialisation, est fondamentale pour assurer une bonne implantation embryonnaire et un développement placentaire correct durant la grossesse. En effet, le syncytiotrophoblaste assure les fonctions majeures d'échanges fœto-maternels ainsi que la production hormonale nécessaire au bon déroulement de la grossesse.

Par ailleurs, des récentes études mettent en évidence l'implication des mitochondries dans la différenciation cellulaire et plus particulièrement dans le processus de fusion cellulaire (Ma *et al.*, 2011; Ryu *et al.*, 2013; Voccoli and Colombaioni, 2009; Wagatsuma and Sakuma, 2013).

Les mitochondries sont des organites complexes qui remplissent des fonctions variées telles que la production d'ATP et d'espèces réactives de l'O₂, le stockage du calcium et la biosynthèse des hormones stéroïdes. Elles sont également impliquées dans le processus apoptotique. De façon intéressante, d'autres travaux décrivent des modifications du métabolisme énergétique et des fonctions mitochondriales au cours de la fusion des CTVs (Bax and Bloxam, 1997; De los Rios Castillo *et al.*, 2011; S. Matsubara *et al.*, 1997).

B- Résultats et discussion

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés aux rôles des mitochondries dans la différenciation des CTVs. Pour cela, nous avons utilisé des inhibiteurs spécifiques des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale : l'oligomycine pour le complexe V, l'antimycine A pour le complexe III et la roténone pour le complexe I. Nous avons d'abord étudié l'impact de ces inhibiteurs sur la viabilité cellulaire en dosant l'activité de la lactate déshydrogénase (LDH) afin de s'assurer de la non-létalité du traitement durant la durée de

l'expérience. Une fois ces vérifications effectuées, nos résultats montrent que l'inhibition des complexes respiratoires diminue de manière significative la différenciation biochimique des CTVs (production d'hCG et expression de la leptine). De plus, nous avons montré que l'inhibition de la chaîne respiratoire mitochondriale diminue également la différenciation morphologique (expression de la syncytine-2 et marquage membranaire de l'E-cadhérine). Ces résultats montrent clairement que la fonction mitochondriale est impliquée dans la différenciation des CTVs.

Dans un deuxième temps, nous avons étudié l'impact d'ERRy sur les capacités de différenciation des CTVs. Pour cela, nous avons utilisé une double approche. D'une part, nous avons invalidé l'expression d'ERRy par ARN interférents, et d'autre part, nous avons activé son activité transcriptionnelle à l'aide d'un agoniste spécifique, le DY131. En étudiant les mêmes marqueurs de différenciation que cités précédemment, nous avons montré qu'ERRy semble être un facteur pro-différenciant.

Dans un troisième temps, nous avons cherché à faire le lien entre ERRy et les mitochondries au cours de la différenciation trophoblastique. Pour cela, nous avons étudié le devenir des mitochondries et du métabolisme énergétique au cours de la différenciation des CTVs en comparant deux situations : des CTVs contrôles non différenciés (CTVs isolés et transfectés avec des ARN interférents non-sens durant 12 heures) et du ST contrôle différencié (CTVs isolés et transfectés avec des ARN interférents non-sens durant 48 heures). Pour plus de simplicité, nous désignons les contrôles non différenciés par « CTV » et les différenciés par « ST ».

Nos expériences révèlent qu'au cours de la différenciation des CTVs, le rapport d'ADN mitochondrial/ADN nucléaire est plus élevé, ce qui reflète une augmentation de la biogenèse

mitochondriale. Cependant, l'intensité du marquage du mitotracker, utilisé pour évaluer la masse mitochondriale, diminue au cours de la différenciation trophoblastique. Cela suggère que, dans le ST, les mitochondries sont vraisemblablement plus nombreuses, mais plus petites. Ces résultats sont confirmés par deux études récentes décrivant l'ultrastructure « atypique » des mitochondries du ST. Les mitochondries du ST semblent effectivement i) être de plus petite taille que celles du CTV, et ii) présenter une organisation différente des crêtes mitochondriales (De los Rios Castillo *et al.*, 2011; S Matsubara *et al.*, 1997). Par ailleurs, l'équipe de Castillo *et al.* a montré que la production d'ATP est moins importante dans les mitochondries du ST par rapport à celles du CTV issus de placenta de troisième trimestre. Dans nos conditions expérimentales, nous montrons que le dosage d'ATP total reste similaire entre les CTVs et le ST. Ces résultats suggèrent que le ST utilise une autre voie de production d'ATP afin de compenser la baisse de production mitochondriale. Nos expériences montrent une augmentation de la production de lactates dans les surnageants de culture du ST. Ainsi, le ST semble compenser la baisse du métabolisme énergétique mitochondrial par une augmentation de la glycolyse anaérobie. Cette adaptation du métabolisme énergétique anaérobie est observée dans la plupart des tumeurs et est impliquée dans la prolifération des cellules cancéreuses. Par conséquent, nous pouvons émettre l'hypothèse que la mise en place de ce métabolisme anaérobie au cours de la différenciation trophoblastique pourrait favoriser le développement placentaire. Des expériences de métabolomique sont actuellement en cours au sein du laboratoire afin de déterminer la ou les voies métaboliques impliquées au cours de la syncytialisation.

Concernant le rôle d'ERR γ dans le métabolisme énergétique au cours de la différenciation, nous avons comparé les deux situations précédentes, les CTVs et le ST contrôles à une troisième situation : le ST invalidé qui correspond à des CTVs isolés et transfectés avec des

ARN interférents anti-ERRy durant 48 heures. Nous montrons que l'invalidation d'ERRy dans le ST entraîne une diminution de la quantité d'ADN mitochondrial, de la masse mitochondriale, de la quantité d'ATP totale ainsi que de la production de lactates. Cela signifie qu'ERRy pourrait être un acteur de la biogenèse mitochondriale et qu'il pourrait participer à l'adaptation des mitochondries au cours de la différenciation des CTVs. Enfin, nos résultats montrent que l'activation d'ERRy par le DY131 ne parvient pas à contrecarrer l'inhibition du complexe V de la chaîne respiratoire par l'oligomycine sur la production d'hCG. Ces résultats suggèrent que l'effet prodifférenciant d'ERRy pourrait passer par sa régulation de l'activité mitochondriale.

En conclusion, nous avons montré dans cette étude que i) les mitochondries sont nécessaires pour la différenciation des CTVs, ii) ERRy est un facteur de transcription clé impliqué dans la régulation de la syncytialisation, iii) ERRy favorise la différenciation des CTVs principalement en contrôlant les fonctions mitochondriales. L'ensemble de ces résultats est résumé dans la figure 25.

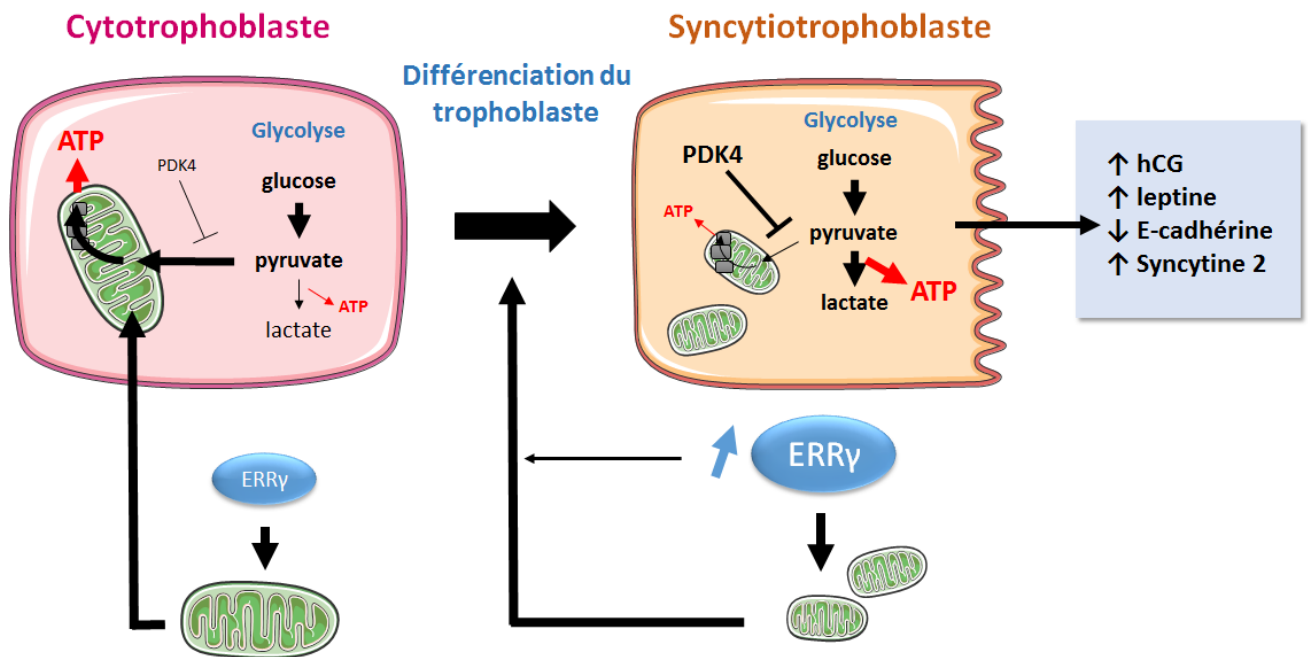


Figure 25 : Bilan des résultats de l'article 2.

ERR γ : Estrogen related receptor- γ , PDK4: pyruvate déshydrogénase kinase 4, hCG: hormone chorionique gonadotrope humaine.

IV- Article 3

A- Introduction

Le retard de croissance intra-utérin (RCIU) est une pathologie grave de la grossesse. Cette pathologie se caractérise par un petit poids de naissance, un périmètre crânien et une taille inférieure au 10^{ème} percentile. Le RCIU associé ou non à la survenue d'une hypertension artérielle maternelle, la prééclampsie (PE), conduit à une mortalité et une morbidité foétale importante.

Différentes données de la littérature révèlent que ces deux pathologies de la grossesse sont associées à i) des défauts de la différenciation des trophoblastes et/ou ii) des dysfonctions morphologiques, fonctionnelles et quantitatives mitochondriales placentaires. Or, nous avons précédemment démontré qu'ERR γ est un acteur majeur, à la fois, dans le processus de différenciation trophoblastique, et dans le métabolisme énergétique et la biogenèse mitochondriale du placenta.

Dans ce contexte, nous avons comparé le contenu mitochondrial, l'expression d'ERR γ ainsi que l'expression de deux co-facteurs connus d'ERR γ , PGC-1 α et SIRT1, entre des placentas contrôles et des placentas RCIU associés ou non à une PE.

B- Résultats et discussion

Dans un premier temps, nous avons étudié le contenu mitochondrial dans le placenta. Nos résultats de PCR en temps réel révèlent l'existence d'une corrélation positive entre la quantité d'ADN mitochondrial et le poids du fœtus. En effet, plus le poids foetal est élevé, et plus le contenu d'ADN mitochondrial est important. Par ailleurs, nous avons montré que la quantité d'ADN mitochondrial, ainsi que l'expression de COX6c, un marqueur du contenu mitochondrial

mesurée par IHC, sont significativement diminués dans les placentas RCIU comparativement aux placentas contrôles. Ces réductions sont également observées dans les placentas RCIU associés à une PE, mais de manière moins importante. Ces résultats sont en accord avec une étude très récente qui décrit une diminution de l'ADN mitochondrial dans les placentas issus de petits poids de naissance (Díaz *et al.*, 2014). Cependant, à l'heure actuelle, ces données restent controversées. En effet, différentes études décrivent une augmentation du contenu en ADN mitochondrial dans le placenta RCIU (Lattuada *et al.*, 2008; Mandò *et al.*, 2014). Cependant, une autre étude montre une diminution de l'ADN mitochondrial dans les CTVs isolés de placentas RCIU (Mandò *et al.*, 2014). Par conséquent, ces différences peuvent s'expliquer, du moins en partie, par i) le degré de sévérité du retard de croissance différent entre les études, ii) la présence ou non d'anomalies vasculaires placentaire, et iii) la variabilité des types cellulaires dans la biopsie de placenta lors du prélèvement. En effet, dans notre étude, les placentas étudiés correspondent à des retards de croissance inférieurs au 10^{ème} percentile, indifféremment de la détection de lésions vasculaires, et sont probablement riches en CTVs. Dans les travaux de Lattuada *et al.*, les RCIU sont en revanche plus sévères (inférieurs au 3^{ème} percentile), et les placentas présentent des lésions vasculaires (données d'échographie doppler).

Dans un deuxième temps, nous avons étudié l'expression d'ERRγ dans les placentas de nos différents groupes. Nous montrons que l'expression d'ERRγ (ARNm et protéine) est significativement diminuée dans les placentas RCIU, et de manière plus importante, dans les RCIU associés à une PE, en comparaison avec des placentas contrôles. Cela suggère que la variation d'expression d'ERRγ pourrait être associée au degré de sévérité de la maladie. Une étude récente confirme l'implication d'ERRγ dans la pathogénie de la PE. Elle montre qu'une

dérégulation de l'expression d'ERR γ affecte le bon développement placentaire (Luo *et al.*, 2014).

Afin de comprendre les mécanismes impliqués dans les variations de l'expression d'ERR γ observées dans les placentas pathologiques, nous avons étudié l'expression de deux co-régulateurs connus d'ERR γ , PGC-1 α et SIRT1. Nous avons montré que l'expression de ces deux co-régulateurs est significativement réduite dans les placentas RCIU associés à une PE. Ces résultats permettent d'expliquer la forte inhibition d'ERR γ observée dans ce groupe, comparativement au groupe RCIU et au groupe contrôle. La diminution de l'expression d'ERR γ dans la population RCIU pourrait donc être due à d'autres acteurs. Des expériences sont actuellement en cours au laboratoire afin d'étudier i) l'expression d'autres co-régulateurs d'ERR γ tels que SHP et RIP-140, et ii) l'implication de miR-378* et miR-22, tous les deux décrits comme des répresseurs de PGC-1 α , SIRT1 et ERR γ (Eichner *et al.*, 2010; Gurha *et al.*, 2013).

En conclusion, cette étude montre une diminution du contenu mitochondrial et de l'expression d'ERR γ dans les placentas RCIU, et une diminution de l'expression d'ERR γ plus accentuée dans les RCIU associés à une PE. Ces résultats laissent supposer que la variation de l'expression d'ERR γ pourrait i) constituer un indicateur du RCIU ii) être corrélée à la gravité de la pathologie. Etudier les causes de la dérégulation d'ERR γ semble être de première importance pour la compréhension de la pathogenèse des RCIU.

Discussion et Perspectives

L'ensemble de ces travaux a permis de mettre en évidence, pour la première fois, qu'ERRy **régule positivement la syncytialisation et module le métabolisme énergétique du cytotrophoblaste humain en contrôlant les fonctions mitochondriales**. Ainsi, ERRy pourrait favoriser la formation d'un placenta fonctionnel doté des capacités sécrétoires et d'échanges foeto-maternels. De plus, nous avons mis en évidence une dérégulation de l'expression d'ERRy dans les placentas pathologiques (RCIU +/- PE).

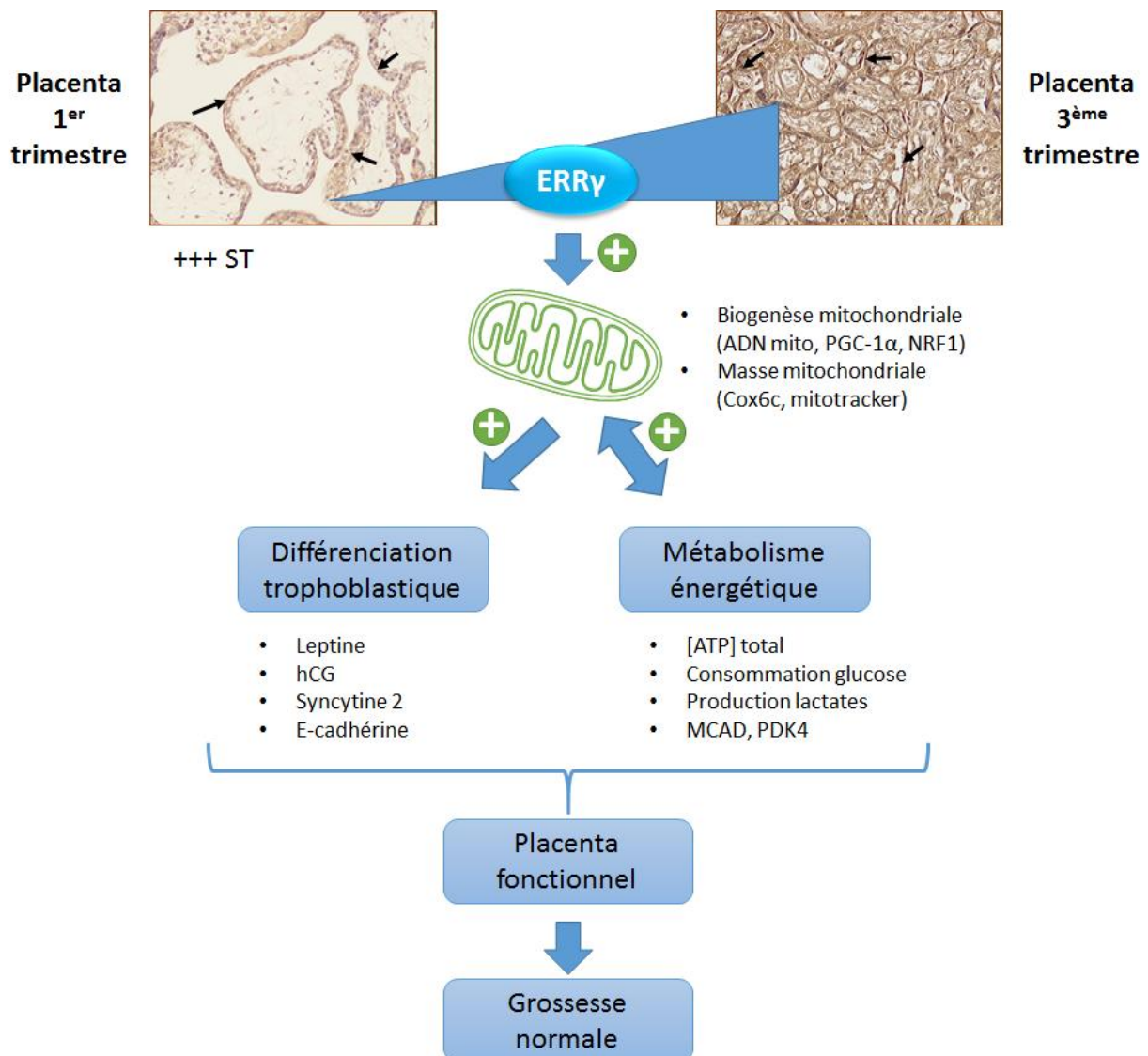


Figure 26 : Bilan général des résultats.

L'ensemble de nos résultats démontre qu'ERRy est un nouveau régulateur positif de la fonction trophoblastique.

I. ERRy, un nouveau facteur présent à l'interface fœto-maternelle

Le rôle principal d'ERRy a été découvert dans les tissus à hauts besoins énergétiques : le muscle squelettique, le cœur, et les reins. Dans ces tissus, ERRy contrôle le métabolisme énergétique, la biogenèse mitochondriale, et le choix des substrats énergétiques en régulant l'expression d'un vaste réseau de gènes cibles.

Dans ce travail, nous avons mis en évidence la présence d'ERRy dans le placenta humain et caractérisé son expression au cours de la grossesse. Nous avons montré qu'ERRy est exprimé majoritairement dans les cytotrophoblastes et que son expression augmente entre le 1^{er} et le 3^{ème} trimestre de grossesse. Ces résultats confirment des résultats préliminaires suggérant la présence d'ERRy dans le placenta humain (Fujimoto *et al.*, 2005; Takeda *et al.*, 2009). D'autre part, nous avons observé que le profil d'expression d'ERRy est identique à celui d'une protéine mitochondriale COX6c dans les placentas de 3^{ème} trimestre de grossesse. **Ces résultats nous ont encouragés à étudier le rôle d'ERRy et les fonctions mitochondriales au cours du développement placentaire.**

Nous avons également montré que l'expression d'ERRy est plus élevée dans le cytotrophoblaste villositaire par comparaison avec le cytotrophoblaste extra-villositaire issus de placentas humains de 1^{er} trimestre. De plus, nous avons observé une augmentation de l'expression d'ERRy au cours de la différenciation *in vitro* des cytotrophoblastes villositaires en culture primaire. Ces résultats sont en accord avec ceux de l'équipe de Kumar et Mendelson et suggèrent un rôle potentiel d'ERRy dans le processus de différenciation trophoblastique (Kumar and Mendelson, 2011). **Nous avons donc poursuivi notre travail en étudiant, par invalidation ou activation**

transcriptionnelle, l'implication d'ERRγ dans le contrôle de la différenciation trophoblastique.

En conclusion, la première partie de ce travail de thèse démontre que le placenta humain est un nouvel exemple d'organe qui exprime fortement le facteur de transcription ERRγ au même titre que les tissus présentant un métabolisme énergétique intense.

Nous souhaitons étendre la caractérisation d'ERRγ à l'interface fœto-placentaire en étudiant précisément l'expression d'ERRγ dans les endomètres humains. Des résultats préliminaires réalisés au laboratoire, démontrent par RT-PCR quantitative, la présence d'ERRγ dans des biopsies d'endomètre en phase implantatoire. Ces premiers résultats seront complétés en augmentant le nombre d'échantillons et par des expériences d'immunoblot. Parallèlement, nous étudierons le rôle d'ERRγ dans la différenciation, *in vitro*, des cellules endométriales. En effet, des données de la littérature montrent que i) les sous types ERRα et ERRβ sont exprimés dans l'endomètre sain et ii) ERRα semble impliqué dans la différenciation des cellules stromales endométriales (Bombail *et al.*, 2010, 2008).

Enfin, nous disposons au laboratoire de biopsies d'endomètres de femmes présentant des échecs répétés d'implantation. Nous comparerons donc l'expression d'ERRγ dans ces endomètres pathologiques et dans les endomètres contrôles.

L'ensemble de ces résultats devrait permettre de déterminer si ERRγ est un nouveau facteur régulateur des fonctions endométriales.

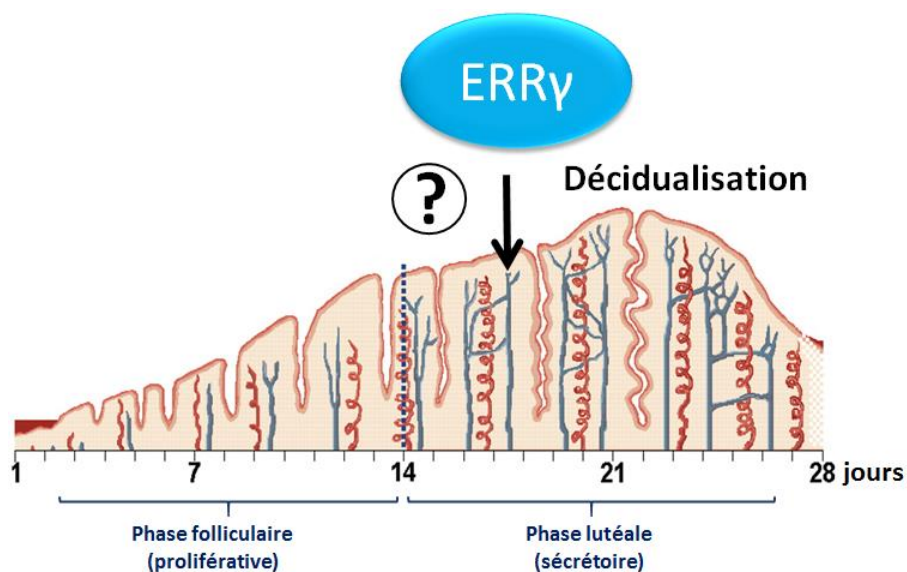


Figure 27 : Rôle potentiel d'ERR γ dans la décidualisation de l'endomètre humain.

II. ERR γ , un nouveau facteur régulateur de la différenciation trophoblastique

A) Dans les conditions physiologiques

Au cours de ce travail, nous avons mis en évidence, pour la première fois, le rôle clé d'ERR γ dans la différenciation biochimique et morphologique du trophoblaste humain. Nos résultats montrent effectivement que l'inactivation d'ERR γ dans les CTVs en culture primaire i) diminue l'expression de la leptine et de l'hCG, deux hormones essentielles de la syncytialisation et ii) diminue l'expression de la syncytine et maintient l'expression de l'E-cadhérine, deux marqueurs morphologiques de la fusion cellulaire. Cependant, les mécanismes moléculaires impliqués dans les effets pro-différenciant d'ERR γ ne sont pas, à l'heure actuelle, clairement déterminés.

L'étude des promoteurs de la leptine et de l'E-cadhérine révèle la présence d'un élément de réponse de type ERRE dans les séquences promotrices de ces deux gènes. Ces

observations suggèrent une régulation directe de l'expression de leptine et de l'E-cadhérine par ERRγ.

En revanche, d'après les données de la littérature, les promoteurs de la sous-unité bêta de l'hCG et des syncytines 1 et 2 ne semblent pas posséder de séquences consensus ERRE dans leur promoteur. Par contre, des éléments de réponse pour le facteur de transcription PPARγ, PPRE, sont décrits dans les promoteurs de ces deux gènes. PPARγ semble être un bon candidat pour expliquer les effets d'ERRγ sur l'expression de l'hCG et des syncytines pour les raisons suivantes.

Premièrement, il a récemment été montré que PPARγ est un régulateur positif de la différenciation trophoblastique. Cet effet est en partie médié par l'activation directe de l'expression de l'hCG et de la syncytine 1 dans les cultures primaires de CTVs de premier trimestre (Handsuh *et al.*, 2009; Ruebner *et al.*, 2012; Tarrade *et al.*, 2001a).

Deuxièmement, d'autres études réalisées dans les préadipocytes humains ont clairement démontré que l'effet pro-différenciant d'ERRγ s'explique par une régulation positive de l'expression de PPARγ, facteur clé de l'adipogenèse (Kubo *et al.*, 2009). Cependant, dans nos conditions expérimentales, nous n'avons pas observé d'altération de l'expression de PPARγ suite à l'inactivation d'ERRγ dans les CTVs en culture primaire. En revanche, nous avons montré qu'ERRγ régule l'expression d'un autre facteur de transcription, le facteur PGC1-α, qui est un co-activateur commun entre les ERRs et les PPARs. Par conséquent, dans notre étude, ERRγ pourrait réguler l'activité transcriptionnelle de PPARγ, de manière indirecte, en modulant la disponibilité de son co-activateur PGC1-α.

Afin de compléter ce travail, nous souhaitons réaliser des expériences de retard sur gel et de gènes rapporteurs. Ces expériences nous permettront i) de démontrer les effets directs

d'ERR γ sur l'expression de leptine et de l'E-cadhérine et ii) de comprendre si les effets d'ERR γ sur l'expression de l'hCG et de la syncytine sont médiés par PPAR γ et/ou PGC1- α .

Ainsi, ce travail devrait nous permettre de déterminer ou non l'existence d'un triptyque fonctionnel entre les facteurs de transcription ERR γ , PGC1- α et PPAR γ dans le placenta humain.

B) Dans les conditions pathologiques

Nous nous sommes ensuite intéressés à l'étude de l'expression d'ERR γ dans les placentas pathologiques issus de RCIU associés ou non à une PE. Nos résultats montrent que l'expression d'ERR γ est significativement diminuée dans les placentas RCIU reliés ou non à une PE comparée à celle de placentas normaux. Cette diminution de l'expression d'ERR γ s'accompagne d'une réduction du contenu mitochondrial mais également de l'expression de PGC1- α et de SIRT1 (protéine activatrice de l'activité de PGC1- α). Ces dernières observations pourraient expliquer, du moins en partie, la sous-expression d'ERR γ dans les placentas pathologiques. Cependant, d'autres mécanismes, et plus particulièrement, l'apport en oxygène et/ou le statut nutritionnel pourraient expliquer la diminution d'ERR γ dans les placentas RCIU +/- PE.

En effet, de nombreuses données de la littérature révèlent que très souvent un stress environnemental cellulaire comme une hypoxie chronique et/ou un déséquilibre nutritionnel s'accompagne d'un RCIU associé ou non à une PE (Shamshirsaz *et al.*, 2011; Veerbeek *et al.*, 2014; Zárate *et al.*, 2014).

En situation hypoxique, par exemple, où un défaut de vascularisation et d'angiogenèse sont observés, l'expression du facteur de transcription HIF1- α est fortement induite (Rajakumar *et al.*, 2004). Or, HIF1- α est décrit comme un inhibiteur de l'expression d'ERR γ

dans les CTVs (Kumar and Mendelson, 2011). De plus, l'hypoxie réprime également l'expression de PPARγ dans les cytotrophoblastes murins et humains (Tache *et al.*, 2013). Par conséquent, un apport en oxygène faible et persistant pourrait constituer une des causes de la dérégulation de l'expression d'ERRγ décrite dans les placentas RCIU +/- PE de notre étude.

Par ailleurs, il est clairement établi que les femmes obèses diabétiques ou au contraire trop maigres présentent des dérégulations du métabolisme énergétique. Ceci s'explique, en partie, par une altération de la structure elle-même des mitochondries placentaires (Hastie and Lappas, 2014; Mele *et al.*, 2014). Plus précisément, dans les placentas de femmes en surpoids associés ou non à un diabète de type I, l'activité de la citrate synthase (enzyme mitochondriale) et l'activité des complexes respiratoires I, II et III sont fortement diminués en comparaison avec les placentas normaux (Hastie and Lappas, 2014). Or, comme décrit dans le chapitre d'introduction, l'expression et l'activité d'ERRγ et de PPARγ sont finement régulées et dépendent du statut énergétique de la cellule. Par exemple, des expériences menées chez la souris révèlent qu'un régime riche en graisses provoque dans sa descendance une sous-expression de nombreux gènes impliqués dans le métabolisme énergétique, la biogenèse et la dynamique mitochondriale et plus particulièrement une diminution de l'expression d'ERRγ (Borengasser *et al.*, 2014). Ainsi, un déséquilibre nutritionnel (apport excessif ou restriction calorique) pourrait être à l'origine d'une dérégulation de l'expression et de l'activité d'ERRγ et de PPARγ. Cette dérégulation pourrait i) perturber le contenu et l'activité mitochondrial des trophoblastes, le métabolisme énergétique placentaire de manière plus générale et donc ii) induire des dysfonctions du placenta (défaut de différenciation, augmentation du stress oxydatif...) pouvant conduire au RCIU ou bien à la PE. Pour tester ces hypothèses, nous utiliserons la même approche méthodologique que décrite précédemment

(expériences de gènes rapporteurs, retard sur gel) et nous pourrions ainsi mieux comprendre l'implication du triptyque $ERR\gamma$ - $PGC-1\alpha$ - $PPAR\gamma$ dans ces deux pathologies de la grossesse.

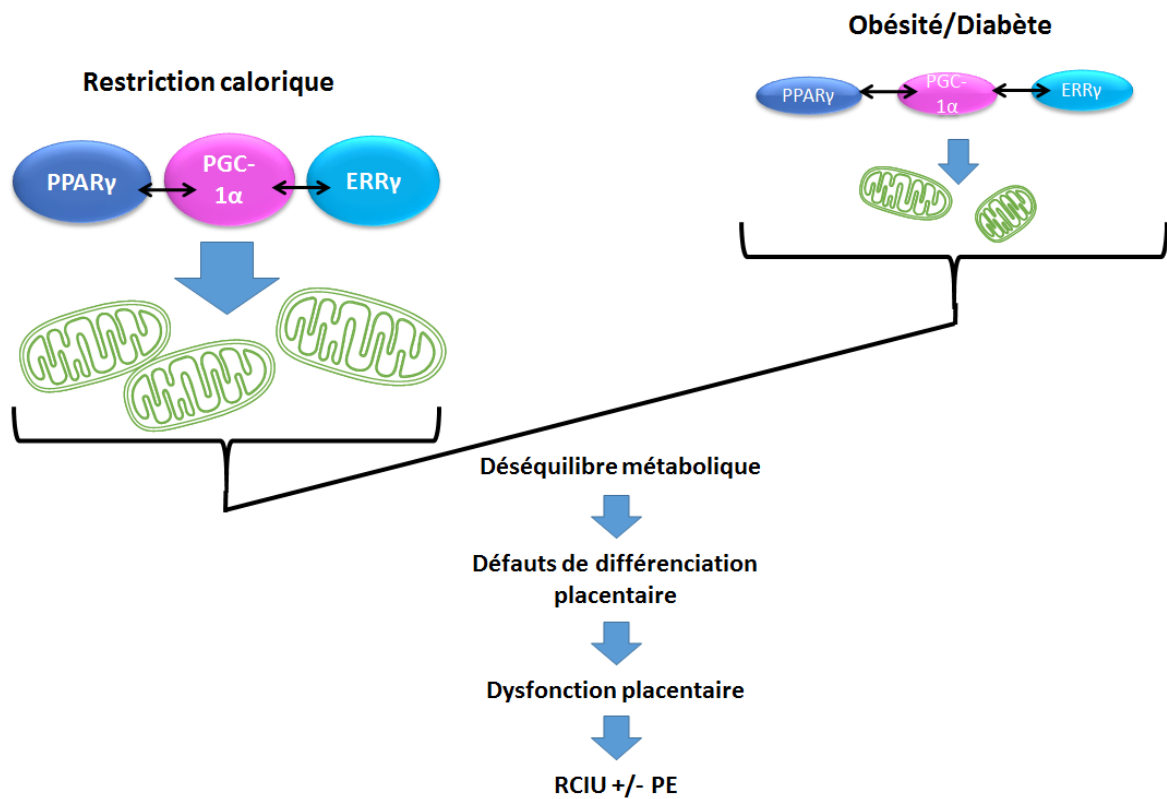


Figure 28 : Implication du triptyque $ERR\gamma$ - $PGC-1\alpha$ - $PPAR\gamma$ dans l'équilibre énergétique et le développement placentaire.

III. $ERR\gamma$ et les mitochondries dans le développement placentaire

Des études récentes ont montré une relation directe entre les fonctions mitochondriales et la différenciation cellulaire.

Ainsi, au cours de la fusion des myocytes en fibre musculaire, la biogenèse et l'activité mitochondriale augmentent, suggérant leur implication dans ce processus (Wagatsuma and Sakuma, 2013). De plus, l'inhibition de l'activité mitochondriale par des inhibiteurs spécifiques de la chaîne respiratoire inhibe le processus de différenciation des myocytes et des cellules

endométriales (Chung *et al.*, 2007; Ma *et al.*, 2011). Ces observations nous ont conduits à étudier le rôle d'ERRγ et des mitochondries dans la différenciation trophoblastique.

Nous avons montré que le métabolisme énergétique des cellules placentaires est modifié au cours de la différenciation trophoblastique. Plus précisément, la production de lactates et l'expression de l'enzyme PDK4 augmentent alors que la concentration d'ATP intracellulaire est inchangée au cours de la syncytialisation. Des travaux très anciens ont mis en évidence que le placenta humain produit des lactates de manière croissante au cours de la grossesse. De plus, une étude réalisée dans les CTVs humains en culture, décrit un pic de production de lactates lors de la différenciation cellulaire (Bax and Bloxam, 1997). L'ensemble de ces résultats suggèrent que, dans le ST, la glycolyse anaérobie est privilégiée. Enfin, nous avons clairement montré que la quantité d'ADN mitochondrial est augmentée et que la masse mitochondriale est diminuée au cours du processus de différenciation trophoblastique. Ces résultats indiquent que dans le ST, les mitochondries sont plus nombreuses mais de plus petite taille. Ces données expérimentales sont en accord avec les travaux d'une étude antérieure qui décrit l'ultra-structure atypique des mitochondries dans le ST. Ces auteurs démontrent que les mitochondries sont de plus petite taille et que, de plus, la production d'ATP mitochondriale est plus faible dans le ST par comparaison avec les CTVs (De los Rios Castillo *et al.*, 2011). Il apparaît donc que la morphologie et la biogénèse mitochondriale sont modifiées au cours de la différenciation trophoblastique. Parallèlement, nous avons montré par une approche d'inactivation de l'expression d'ERRγ, que ce facteur de transcription contrôle les différentes modifications de la biogénèse et des fonctions mitochondriales au cours de la syncytialisation. Il est bien établi que les mitochondries sont organisées en un réseau dynamique contrôlé par des processus de fusion et de fission. Deux protéines mitochondriales, les mitofusines 1 et 2

(Mfn1 et Mfn2), sont spécifiquement impliquées dans la fusion mitochondriale. Les souris Mfn1 ^{-/-} ou Mfn2 ^{-/-} meurent au stade embryonnaire à la suite de dysfonctions mitochondriales et placentaires (Chen *et al.*, 2003). De plus, une autre étude décrit une baisse d'expression de Mfn2 dans les placentas de femmes présentant des fausses couches précoces (Pang *et al.*, 2013). Enfin, des travaux réalisés en 2006, démontrent, dans un modèle murin, qu'ERRα, en association avec PGC-1α, favorise l'expression de Mfn2 dans les cellules musculaires (Soriano *et al.*, 2006).

Nous souhaitons donc préciser l'implication d'ERRγ dans les changements morphologiques des mitochondries au cours de la différenciation trophoblastique. Pour cela, nous étudierons, après invalidation d'ERRγ, l'intégralité du réseau mitochondrial en mesurant l'expression de la protéine COX6c au cours de la différenciation trophoblastique. Nous compléterons ces observations par la mesure de l'expression de Mfn 1 et Mfn2. L'ensemble de ces résultats devrait permettre de mieux comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans les changements morphologiques des mitochondries observés au cours de la formation du ST.

Les modifications morphologiques et fonctionnelles des mitochondries, que nous avons observées dans ce travail de thèse, suggèrent fortement que les mitochondries sont faiblement impliquées dans la production d'énergie dans le ST (faible production d'ATP et glycolyse anaérobie). Ces modifications pourraient donc être associées à une spécialisation des mitochondries pour assurer les nouvelles fonctions du ST.

En effet, le ST est le site majeur de production des hormones stéroïdes (œstrogènes et progestérone) et cette biosynthèse a lieu dans les mitochondries. L'équipe de Castigliano *et al.* a montré que les mitochondries isolées du ST produisent de plus grandes quantités de progestérone par comparaison avec les mitochondries des CTVs issus de placentas à terme

(De los Rios Castillo *et al.*, 2011). Plus récemment, il a été montré que l'expression du gène *CYP19L1* codant pour l'aromatase, enzyme clé de la biosynthèse des œstrogènes, augmente très fortement au cours de la différenciation des CTVs. Les auteurs montrent également que l'induction du gène *CYP19L1* est sous le contrôle d'ERRy (Kumar and Mendelson, 2011). En 2013, les mêmes auteurs ont comparé les transcriptomes des CTVs et du ST après invalidation de l'expression d'ERRy par ARN interférents. Les résultats de cette étude confirment qu'ERRy régule positivement l'expression du gène de *CYP19L1*, mais également celle de deux autres gènes (*HSD17B1* et *HSD11B2*) impliqués dans la biosynthèse des hormones stéroïdes (Luo *et al.*, 2013).

En conclusion, il semble qu'ERRy, par son contrôle transcriptionnel des gènes impliqués dans **la biosynthèse des hormones stéroïdes**, participe à la spécialisation des mitochondries nécessaire à la syncytialisation des CTVs.

Cependant, les mitochondries pourraient intervenir dans un autre processus critique pour la différenciation du ST, **l'apoptose différenciante**.

La différenciation des CTVs nécessite la mise en place d'un processus apoptotique particulier appelé apoptose différenciante. Elle met en jeu l'activation de caspases spécifiques telles que les caspases 8 et 14, et la libération de cytochrome c mitochondrial. Cependant, l'activation de ces voies ne conduit pas à la mort cellulaire. Ce processus apoptotique est contrôlé grâce à une spécificité des cellules trophoblastiques. En effet, les trophoblastes expriment fortement des facteurs anti-apoptotiques tels que Bcl2 et des inhibiteurs des caspases de la famille IAP (inhibitors of apoptosis). Ainsi, cette surexpression permet de freiner l'avancée de la mort cellulaire et de favoriser la différenciation du ST (Black *et al.*, 2004; Das *et al.*, 2004; Huppertz *et al.*, 2006; Straszewski-Chavez *et al.*, 2005).

Il semble intéressant de préciser le rôle d'ERRγ dans ce processus d'apoptose différenciante. Nous envisageons donc d'étudier les effets, *in vitro*, de l'activation ou de l'inactivation d'ERRγ sur l'expression et l'activation des caspases 8 et 14 dans les CTVs.

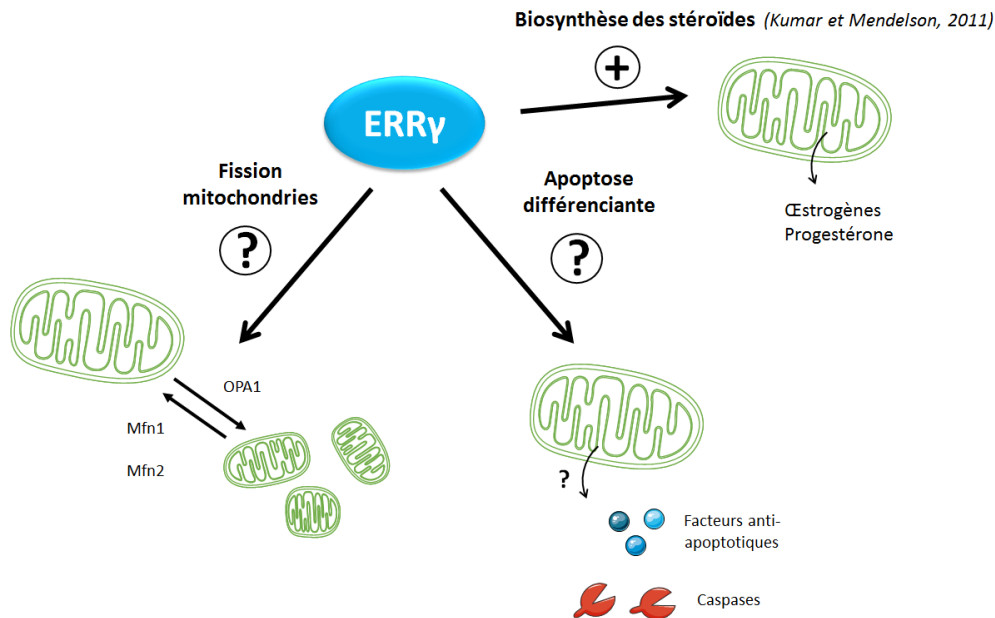


Figure 29 : Rôle potentiel d'ERRγ dans la mitochondrie au cours de la différenciation du trophoblaste humain.

ERRγ : Estrogen related receptor-γ, Mfn1-2 : Mitofusine 1 et 2.

L'ensemble de ces travaux devrait permettre i) d'approfondir le rôle d'ERRγ et des mitochondries dans le processus de différenciation trophoblastique, ii) d'étudier le rôle coordonné d'ERRγ et de PPARγ dans le développement placentaire et iii) de déterminer si ERRγ peut être considéré comme un nouveau biomarqueur du bon déroulement de la grossesse.

Bibliographie

- Agrogiannis, G.D., Sifakis, S., Patsouris, E.S., Konstantinidou, A.E., 2014. Insulin-like growth factors in embryonic and fetal growth and skeletal development (Review). *Mol. Med. Rep.* 10, 579–584. doi:10.3892/mmr.2014.2258
- Ahmed, R., Dunford, J., Mehran, R., Robson, S., Kunadian, V., 2014. Pre-Eclampsia and Future Cardiovascular Risk Among Women: A Review. *J. Am. Coll. Cardiol.* 63, 1815–1822. doi:10.1016/j.jacc.2014.02.529
- Alaynick, W.A., Kondo, R.P., Xie, W., He, W., Dufour, C.R., Downes, M., Jonker, J.W., Giles, W., Naviaux, R.K., Giguère, V., Evans, R.M., 2007. ERRgamma directs and maintains the transition to oxidative metabolism in the postnatal heart. *Cell Metab.* 6, 13–24. doi:10.1016/j.cmet.2007.06.007
- Alaynick, W.A., Way, J.M., Wilson, S.A., Benson, W.G., Pei, L., Downes, M., Yu, R., Jonker, J.W., Holt, J.A., Rajpal, D.K., Li, H., Stuart, J., McPherson, R., Remlinger, K.S., Chang, C.-Y., McDonnell, D.P., Evans, R.M., Billin, A.N., 2010. ERRgamma regulates cardiac, gastric, and renal potassium homeostasis. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 24, 299–309. doi:10.1210/me.2009-0114
- Al-Nasiry, S., Spitz, B., Hanssens, M., Luyten, C., Pijnenborg, R., 2006. Differential effects of inducers of syncytialization and apoptosis on BeWo and JEG-3 choriocarcinoma cells. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 21, 193–201. doi:10.1093/humrep/dei272
- Alsat, E., Evain-Brion, D., 1999. Le placenta humain : neuf mois d’une intense activité encore méconnue. *Médecine Thérapeutique Pédiatrie* 1, 509–16.
- Alsat, E., Guibourdenche, J., Couturier, A., Evain-Brion, D., 1998. Physiological role of human placental growth hormone. *Mol. Cell. Endocrinol.* 140, 121–127.
- Ang, J., Sheng, J., Lai, K., Wei, S., Gao, X., 2013. Identification of Estrogen Receptor-Related Receptor Gamma as a Direct Transcriptional Target of Angiogenin. *PLoS ONE* 8. doi:10.1371/journal.pone.0071487
- Anteby, E.Y., Greenfield, C., Natanson-Yaron, S., Goldman-Wohl, D., Hamani, Y., Khudyak, V., Ariel, I., Yagel, S., 2004. Vascular endothelial growth factor, epidermal growth factor and fibroblast growth factor-4 and -10 stimulate trophoblast plasminogen activator system and metalloproteinase-9. *Mol. Hum. Reprod.* 10, 229–235. doi:10.1093/molehr/gah031
- Aplin, J.D., 2000. Hypoxia and human placental development. *J. Clin. Invest.* 105, 559–560. doi:10.1172/JCI9512
- Aplin, J.D., Haigh, T., Jones, C.J., Church, H.J., Vićovac, L., 1999. Development of cytotrophoblast columns from explanted first-trimester human placental villi: role of fibronectin and integrin alpha5beta1. *Biol. Reprod.* 60, 828–838.
- Araki-Taguchi, M., Nomura, S., Ino, K., Sumigama, S., Yamamoto, E., Kotani-Ito, T., Hayakawa, H., Kajiyama, H., Shibata, K., Itakura, A., Kikkawa, F., 2008. Angiotensin II mimics the hypoxic effect on regulating trophoblast proliferation and differentiation in human placental explant cultures. *Life Sci.* 82, 59–67. doi:10.1016/j.lfs.2007.10.017
- Ariazi, E.A., Clark, G.M., Mertz, J.E., 2002. Estrogen-related receptor alpha and estrogen-related receptor gamma associate with unfavorable and favorable biomarkers, respectively, in human breast cancer. *Cancer Res.* 62, 6510–6518.
- Arroyo, J.A., Winn, V.D., 2008. Vasculogenesis and angiogenesis in the IUGR placenta. *Semin. Perinatol.* 32, 172–177. doi:10.1053/j.semperi.2008.02.006

- Ashworth, C.J., Hoggard, N., Thomas, L., Mercer, J.G., Wallace, J.M., Lea, R.G., 2000. Placental leptin. *Rev. Reprod.* 5, 18. doi:10.1530/ror.0.0050018
- Askelund, K.J., Chamley, L.W., 2011. Trophoblast deportation part I: review of the evidence demonstrating trophoblast shedding and deportation during human pregnancy. *Placenta* 32, 716–723. doi:10.1016/j.placenta.2011.07.081
- Aye, I.L.M.H., Powell, T.L., Jansson, T., 2013. Review: Adiponectin – The Missing Link between Maternal Adiposity, Placental Transport and Fetal Growth? *Placenta* 34 Suppl, S40–S45. doi:10.1016/j.placenta.2012.11.024
- Baczyk, D., Drewlo, S., Proctor, L., Dunk, C., Lye, S., Kingdom, J., 2009. Glial cell missing-1 transcription factor is required for the differentiation of the human trophoblast. *Cell Death Differ.* 16, 719–727. doi:10.1038/cdd.2009.1
- Barak, Y., Nelson, M.C., Ong, E.S., Jones, Y.Z., Ruiz-Lozano, P., Chien, K.R., Koder, A., Evans, R.M., 1999. PPAR gamma is required for placental, cardiac, and adipose tissue development. *Mol. Cell* 4, 585–595.
- Barry, J.B., Laganière, J., Giguère, V., 2006. A single nucleotide in an estrogen-related receptor alpha site can dictate mode of binding and peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1alpha activation of target promoters. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 20, 302–310. doi:10.1210/me.2005-0313
- Bartha, J.L., Visiedo, F., Fernández-Deudero, A., Bugatto, F., Perdomo, G., 2012. Decreased mitochondrial fatty acid oxidation in placentas from women with preeclampsia. *Placenta* 33, 132–134. doi:10.1016/j.placenta.2011.11.027
- Barut, F., Barut, A., Gun, B.D., Kandemir, N.O., Harma, M.I., Harma, M., Aktunc, E., Ozdamar, S.O., 2010. Intrauterine growth restriction and placental angiogenesis. *Diagn. Pathol.* 5, 24. doi:10.1186/1746-1596-5-24
- Basak, S., Duttaroy, A.K., 2012. Leptin induces tube formation in first-trimester extravillous trophoblast cells. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 164, 24–29. doi:10.1016/j.ejogrb.2012.05.033
- Bass, K.E., Morrish, D., Roth, I., Bhardwaj, D., Taylor, R., Zhou, Y., Fisher, S.J., 1994. Human cytotrophoblast invasion is up-regulated by epidermal growth factor: evidence that paracrine factors modify this process. *Dev. Biol.* 164, 550–561. doi:10.1006/dbio.1994.1223
- Battistelli, M., Burattini, S., Pomini, F., Scavo, M., Caruso, A., Falcieri, E., 2004. Ultrastructural study on human placenta from intrauterine growth retardation cases. *Microsc. Res. Tech.* 65, 150–158. doi:10.1002/jemt.20120
- Bax, B.E., Bloxam, D.L., 1997. Energy metabolism and glycolysis in human placental trophoblast cells during differentiation. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Bioenerg.* 1319, 283–292. doi:10.1016/S0005-2728(96)00169-7
- Belkacemi, L., Desai, M., Nelson, D.M., Ross, M.G., 2011. Altered mitochondrial apoptotic pathway in placentas from undernourished rat gestations. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* 301, R1599–R1615. doi:10.1152/ajpregu.00100.2011
- Benaitreau, D., Dos Santos, E., Leneveu, M.-C., De Mazancourt, P., Pecquery, R., Dieudonné, M.-N., 2010. Adiponectin promotes syncytialisation of BeWo cell line and primary trophoblast cells. *Reprod. Biol. Endocrinol. RBE* 8, 128. doi:10.1186/1477-7827-8-128
- Biadasiewicz, K., Sonderegger, S., Haslinger, P., Haider, S., Saleh, L., Fiala, C., Pollheimer, J., Knöfler, M., 2011. Transcription factor AP-2α promotes EGF-dependent invasion of human trophoblast. *Endocrinology* 152, 1458–1469. doi:10.1210/en.2010-0936

- Biswas, G., Adebajo, O.A., Freedman, B.D., Anandatheerthavarada, H.K., Vijayasathy, C., Zaidi, M., Kotlikoff, M., Avadhani, N.G., 1999. Retrograde Ca^{2+} signaling in C2C12 skeletal myocytes in response to mitochondrial genetic and metabolic stress: a novel mode of inter-organelle crosstalk. *EMBO J.* 18, 522–533. doi:10.1093/emboj/18.3.522
- Black, S., Kadyrov, M., Kaufmann, P., Ugele, B., Emans, N., Huppertz, B., 2004. Syncytial fusion of human trophoblast depends on caspase 8. *Cell Death Differ.* 11, 90–98. doi:10.1038/sj.cdd.4401307
- Blesa, J.R., Prieto-Ruiz, J.A., Abraham, B.A., Harrison, B.L., Hegde, A.A., Hernández-Yago, J., 2008. NRF-1 is the major transcription factor regulating the expression of the human TOMM34 gene. *Biochem. Cell Biol. Biochim. Biol. Cell.* 86, 46–56. doi:10.1139/o07-151
- Blois, S.M., Gueuvoghlian-Silva, B.Y., Tirado-González, I., Torloni, M.R., Freitag, N., Mattar, R., Conrad, M.L., Unverdorben, L., Barrientos, G., Knabl, J., Toldi, G., Molvarec, A., Rose, M., Markert, U.R., Jeschke, U., Daher, S., 2014. Getting too sweet: galectin-1 dysregulation in gestational diabetes mellitus. *Mol. Hum. Reprod.* 20, 644–649. doi:10.1093/molehr/gau021
- Blond, J.L., Lavillette, D., Cheynet, V., Bouton, O., Oriol, G., Chapel-Fernandes, S., Mandrand, B., Mallet, F., Cosset, F.L., 2000. An envelope glycoprotein of the human endogenous retrovirus HERV-W is expressed in the human placenta and fuses cells expressing the type D mammalian retrovirus receptor. *J. Virol.* 74, 3321–3329.
- Bombail, V., Gibson, D.A., Collins, F., MacPherson, S., Critchley, H.O.D., Saunders, P.T.K., 2010. A Role for the orphan nuclear receptor estrogen-related receptor alpha in endometrial stromal cell decidualization and expression of genes implicated in energy metabolism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 95, E224–228. doi:10.1210/jc.2010-0154
- Bombail, V., MacPherson, S., Critchley, H.O.D., Saunders, P.T.K., 2008. Estrogen receptor related beta is expressed in human endometrium throughout the normal menstrual cycle. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 23, 2782–2790. doi:10.1093/humrep/den298
- Borengasser, S.J., Faske, J., Kang, P., Blackburn, M.L., Badger, T.M., Shankar, K., 2014. In Utero Exposure to Pre-Pregnancy Maternal Obesity and Post-weaning High Fat Diet Impairs Regulators of Mitochondrial Dynamics in Rat Placenta and Offspring. *Physiol. Genomics* physiolgenomics.00059.2014. doi:10.1152/physiolgenomics.00059.2014
- Brosens, J.J., Hayashi, N., White, J.O., 1999. Progesterone receptor regulates decidual prolactin expression in differentiating human endometrial stromal cells. *Endocrinology* 140, 4809–4820. doi:10.1210/endo.140.10.7070
- Brouillet, S., Murthi, P., Hoffmann, P., Salomon, A., Sergeant, F., De Mazancourt, P., Dakouane-Giudicelli, M., Dieudonné, M.N., Rozenberg, P., Vaiman, D., Barbaux, S., Benharouga, M., Feige, J.-J., Alfaidy, N., 2013. EG-VEGF controls placental growth and survival in normal and pathological pregnancies: case of fetal growth restriction (FGR). *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 70, 511–525. doi:10.1007/s00018-012-1141-z
- Butow, R.A., Avadhani, N.G., 2004. Mitochondrial Signaling: The Retrograde Response. *Mol. Cell* 14, 1–15. doi:10.1016/S1097-2765(04)00179-0
- Byerly, M.S., Al Salayta, M., Swanson, R.D., Kwon, K., Peterson, J.M., Wei, Z., Aja, S., Moran, T.H., Blackshaw, S., Wong, G.W., 2013. Estrogen-related receptor β deletion modulates whole-body energy balance via estrogen-related receptor γ and attenuates neuropeptide Y gene expression. *Eur. J. Neurosci.* 37, 1033–1047. doi:10.1111/ejn.12122

- Caffin, F., 2012. Rôle d'OPA1 dans le fonctionnement et l'architecture des cellules musculaires striées et dans la réponse à un stress (phdthesis). Université Paris Sud - Paris XI.
- Cai, Q., Lin, T., Kamarajugadda, S., Lu, J., 2013. Regulation of glycolysis and the Warburg effect by estrogen-related receptors. *Oncogene* 32, 2079–2086. doi:10.1038/onc.2012.221
- Cameo, P., Bischof, P., Calvo, J.C., 2003. Effect of leptin on progesterone, human chorionic gonadotropin, and interleukin-6 secretion by human term trophoblast cells in culture. *Biol. Reprod.* 68, 472–477.
- Caniggia, I., Grisaru-Gravnosky, S., Kuliszewsky, M., Post, M., Lye, S.J., 1999. Inhibition of TGF-beta 3 restores the invasive capability of extravillous trophoblasts in preeclamptic pregnancies. *J. Clin. Invest.* 103, 1641–1650. doi:10.1172/JCI6380
- Cardelli, M., Zirngibl, R.A., Boetto, J.F., McKenzie, K.P., Troy, T.-C., Turksen, K., Aubin, J.E., 2013. Cartilage-Specific Overexpression of *ERRγ* Results in Chondrodysplasia and Reduced Chondrocyte Proliferation. *PLoS ONE* 8, e81511. doi:10.1371/journal.pone.0081511
- Carter, A.M., 2008. Maintaining the integrity of trophoblast during growth of the placenta. Focus on “Insulin-like growth factor I and II regulate the life cycle of trophoblast in the developing human placenta.” *Am. J. Physiol. - Cell Physiol.* 294, C1303–C1304. doi:10.1152/ajpcell.00149.2008
- Castellucci, M., De Matteis, R., Meisser, A., Canello, R., Monsurrò, V., Islami, D., Sarzani, R., Marzioni, D., Cinti, S., Bischof, P., 2000. Leptin modulates extracellular matrix molecules and metalloproteinases: possible implications for trophoblast invasion. *Mol. Hum. Reprod.* 6, 951–958.
- Castet, A., Herledan, A., Bonnet, S., Jalaguier, S., Vanacker, J.-M., Cavaillès, V., 2006. Receptor-interacting protein 140 differentially regulates estrogen receptor-related receptor transactivation depending on target genes. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 20, 1035–1047. doi:10.1210/me.2005-0227
- Chang, C.-W., Chang, G.-D., Chen, H., 2011. A novel cyclic AMP/Epac1/CaMKI signaling cascade promotes GCM1 desumoylation and placental cell fusion. *Mol. Cell. Biol.* 31, 3820–3831. doi:10.1128/MCB.05582-11
- Chao, E.Y.H., Collins, J.L., Gaillard, S., Miller, A.B., Wang, L., Orband-Miller, L.A., Nolte, R.T., McDonnell, D.P., Willson, T.M., Zuercher, W.J., 2006. Structure-guided synthesis of tamoxifen analogs with improved selectivity for the orphan *ERRγ*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16, 821–824. doi:10.1016/j.bmcl.2005.11.030
- Chehab, F.F., Lim, M.E., Lu, R., 1996. Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. *Nat. Genet.* 12, 318–320. doi:10.1038/ng0396-318
- Cheng, J.-C., Chang, H.-M., Leung, P.C.K., 2013. Transforming growth factor- β 1 inhibits trophoblast cell invasion by inducing Snail-mediated down-regulation of vascular endothelial-cadherin protein. *J. Biol. Chem.* 288, 33181–33192. doi:10.1074/jbc.M113.488866
- Chen, H., Detmer, S.A., Ewald, A.J., Griffin, E.E., Fraser, S.E., Chan, D.C., 2003. Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development. *J. Cell Biol.* 160, 189–200. doi:10.1083/jcb.200211046

- Chen, J.Z.-J., Wong, M.H., Brennecke, S.P., Keogh, R.J., 2011. The effects of human chorionic gonadotrophin, progesterone and oestradiol on trophoblast function. *Mol. Cell. Endocrinol.* 342, 73–80. doi:10.1016/j.mce.2011.05.034
- Chui, A., Tay, C., Cocquebert, M., Sheehan, P., Pathirage, N.A., Donath, S., Fournier, T., Badet, J., Evain-Brion, D., Brennecke, S.P., Kalionis, B., Murthi, P., 2012. Homeobox gene *Distal-less 3* is a regulator of villous cytotrophoblast differentiation and its expression is increased in human idiopathic foetal growth restriction. *J. Mol. Med. Berl. Ger.* 90, 273–284. doi:10.1007/s00109-011-0836-1
- Chung, S., Dzeja, P.P., Faustino, R.S., Perez-Terzic, C., Behfar, A., Terzic, A., 2007. Mitochondrial oxidative metabolism is required for the cardiac differentiation of stem cells. *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* 4 Suppl 1, S60–67. doi:10.1038/ncpcardio0766
- Cocquebert, M., Berndt, S., Segond, N., Guibourdenche, J., Murthi, P., Aldaz-Carroll, L., Evain-Brion, D., Fournier, T., 2012. Comparative expression of hCG β -genes in human trophoblast from early and late first-trimester placentas. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 303, E950–958. doi:10.1152/ajpendo.00087.2012
- Cohen, M., Ribaux, P., Epiney, M., Irion, O., 2012. Expression of metalloproteinases 1, 2, 7, 9, and 12 in human cytotrophoblastic cells from normal and preeclamptic placentas. *Neuro Endocrinol. Lett.* 33, 406–411.
- Cole, L.A., 2012. hCG, the wonder of today's science. *Reprod. Biol. Endocrinol. RBE* 10, 24. doi:10.1186/1477-7827-10-24
- Collège national des gynécologues, et obstétriciens français, 2013. Recommandations pour la pratique clinique Le retard de croissance intra-utérin. Presented at the 37ES JOURNÉES NATIONALES, Paris.
- Cordier, A.-G., Nedellec, S., Benachi, A., Frydman, R., Picone, O., 2011. Quels arguments pour déterminer l'origine infectieuse d'un retard de croissance intra-utérin ? *J. Gynécologie Obstétrique Biol. Reprod.* 40, 109–115. doi:10.1016/j.jgyn.2011.01.001
- Corton, J.C., Brown-Borg, H.M., 2005. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Coactivator 1 in Caloric Restriction and Other Models of Longevity. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 60, 1494–1509. doi:10.1093/gerona/60.12.1494
- Coutifarís, C., Kao, L.C., Sehdev, H.M., Chin, U., Babalola, G.O., Blaschuk, O.W., Strauss, J.F., 1991. E-cadherin expression during the differentiation of human trophoblasts. *Development* 113, 767–777.
- Coward, P., Lee, D., Hull, M.V., Lehmann, J.M., 2001. 4-Hydroxytamoxifen binds to and deactivates the estrogen-related receptor gamma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 8880–8884. doi:10.1073/pnas.151244398
- Cronier, L., Bastide, B., Hervé, J.C., Délèze, J., Malassiné, A., 1994. Gap junctional communication during human trophoblast differentiation: influence of human chorionic gonadotropin. *Endocrinology* 135, 402–408. doi:10.1210/endo.135.1.8013377
- Cronier, L., Frendo, J.-L., Defamie, N., Pidoux, G., Bertin, G., Guibourdenche, J., Pointis, G., Malassine, A., 2003. Requirement of gap junctional intercellular communication for human villous trophoblast differentiation. *Biol. Reprod.* 69, 1472–1480. doi:10.1095/biolreprod.103.016360
- Crosley, E.J., Dunk, C.E., Beristain, A.G., Christians, J.K., 2014. IGFBP-4 and -5 are expressed in first-trimester villi and differentially regulate the migration of HTR-8/SVneo cells. *Reprod. Biol. Endocrinol. RBE* 12, 123. doi:10.1186/1477-7827-12-123

- Dakour, J., Li, H., Chen, H., Morrish, D.W., 1999. EGF promotes development of a differentiated trophoblast phenotype having c-myc and junB proto-oncogene activation. *Placenta* 20, 119–126. doi:10.1053/plac.1998.0336
- Damsky, C.H., Fitzgerald, M.L., Fisher, S.J., 1992. Distribution patterns of extracellular matrix components and adhesion receptors are intricately modulated during first trimester cytotrophoblast differentiation along the invasive pathway, in vivo. *J. Clin. Invest.* 89, 210–222. doi:10.1172/JCI115565
- Das, M., Xu, B., Lin, L., Chakrabarti, S., Shivaswamy, V., Rote, N.S., 2004. Phosphatidylserine efflux and intercellular fusion in a BeWo model of human villous cytotrophoblast. *Placenta* 25, 396–407. doi:10.1016/j.placenta.2003.11.004
- Deblois, G., Giguère, V., 2011. Functional and physiological genomics of estrogen-related receptors (ERRs) in health and disease. *Biochim. Biophys. Acta* 1812, 1032–1040. doi:10.1016/j.bbadis.2010.12.009
- DeChiara, T.M., Efstratiadis, A., Robertson, E.J., 1990. A growth-deficiency phenotype in heterozygous mice carrying an insulin-like growth factor II gene disrupted by targeting. *Nature* 345, 78–80. doi:10.1038/345078a0
- De Graeff-Meeder, E.R., Wit, J.M., 1986. [Glucocorticoids in pregnancy: effects on the fetus and newborn infant]. *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 130, 2168–2171.
- De los Rios Castillo, D., Zarco-Zavala, M., Olvera-Sanchez, S., Pardo, J.P., Juarez, O., Martinez, F., Mendoza-Hernandez, G., García-Trejo, J.J., Flores-Herrera, O., 2011. Atypical cristae morphology of human syncytiotrophoblast mitochondria: role for complex V. *J. Biol. Chem.* 286, 23911–23919. doi:10.1074/jbc.M111.252056
- Denecker, G., Ovaere, P., Vandenabeele, P., Declercq, W., 2008. Caspase-14 reveals its secrets. *J. Cell Biol.* 180, 451–458. doi:10.1083/jcb.200709098
- Devarakonda, S., Gupta, K., Chalmers, M.J., Hunt, J.F., Griffin, P.R., Van Duyne, G.D., Spiegelman, B.M., 2011. Disorder-to-order transition underlies the structural basis for the assembly of a transcriptionally active PGC-1 β /ERR α complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 18678–18683. doi:10.1073/pnas.1113813108
- Díaz, M., Aragonés, G., Sánchez-Infantes, D., Bassols, J., Pérez-Cruz, M., de Zegher, F., Lopez-Bermejo, A., Ibáñez, L., 2014. Mitochondrial DNA in Placenta: Associations with Fetal Growth and Superoxide Dismutase Activity. *Horm. Res. Paediatr.* doi:10.1159/000366079
- Dijk, M. van, Bezu, J. van, Abel, D. van, Dunk, C., Blankenstein, M.A., Oudejans, C.B.M., Lye, S.J., 2010. The STOX1 genotype associated with pre-eclampsia leads to a reduction of trophoblast invasion by α -T-catenin upregulation. *Hum. Mol. Genet.* 19, 2658–2667. doi:10.1093/hmg/ddq152
- Dixen, K., Basse, A.L., Murholm, M., Isidor, M.S., Hansen, L.H.L., Petersen, M.C.H., Madsen, L., Petrovic, N., Nedergaard, J., Quistorff, B., Hansen, J.B., 2013. ERR γ enhances UCP1 expression and fatty acid oxidation in brown adipocytes. *Obes. Silver Spring Md* 21, 516–524. doi:10.1002/oby.20067
- Dodson, M., Darley-Usmar, V., Zhang, J., 2013. Cellular metabolic and autophagic pathways: traffic control by redox signaling. *Free Radic. Biol. Med.* 63, 207–221. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.014
- Doridot, L., Passet, B., Méhats, C., Rigourd, V., Barbaux, S., Ducat, A., Mondon, F., Vilotte, M., Castille, J., Breuiller-Fouché, M., Daniel, N., Provost, F. le, Bauchet, A.-L., Baudrie, V., Hertig, A., Buffat, C., Simeoni, U., Germain, G., Vilotte, J.-L., Vaiman, D., 2013. Preeclampsia-Like Symptoms Induced in Mice by Fetoplacental Expression of STOX1

- Are Reversed by Aspirin Treatment. *Hypertension* 61, 662–668.
doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.202994
- Duckitt, K., Harrington, D., 2005. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ* 330, 565.
doi:10.1136/bmj.38380.674340.E0
- Dufour, C.R., Wilson, B.J., Huss, J.M., Kelly, D.P., Alaynick, W.A., Downes, M., Evans, R.M., Blanchette, M., Giguère, V., 2007. Genome-wide orchestration of cardiac functions by the orphan nuclear receptors ERR α and γ . *Cell Metab.* 5, 345–356.
doi:10.1016/j.cmet.2007.03.007
- Dufour, C.R., Wilson, B.J., Huss, J.M., Kelly, D.P., Alaynick, W.A., Downes, M., Evans, R.M., Blanchette, M., Giguère, V., 2007. Genome-wide Orchestration of Cardiac Functions by the Orphan Nuclear Receptors ERR α and γ . *Cell Metab.* 5, 345–356.
doi:10.1016/j.cmet.2007.03.007
- Duley, L., 2009. The Global Impact of Pre-eclampsia and Eclampsia. *Semin. Perinatol., Severe Pre-eclampsia and Maternal Health* 33, 130–137. doi:10.1053/j.semperi.2009.02.010
- Dupressoir, A., Laviaille, C., Heidmann, T., 2012. From ancestral infectious retroviruses to bona fide cellular genes: Role of the captured syncytins in placentation. *Placenta* 33, 663–671. doi:10.1016/j.placenta.2012.05.005
- Eichner, L.J., Giguère, V., 2011. Estrogen related receptors (ERRs): a new dawn in transcriptional control of mitochondrial gene networks. *Mitochondrion* 11, 544–552.
doi:10.1016/j.mito.2011.03.121
- Eichner, L.J., Perry, M.-C., Dufour, C.R., Bertos, N., Park, M., St-Pierre, J., Giguère, V., 2010. miR-378(*) mediates metabolic shift in breast cancer cells via the PGC-1 β /ERR γ transcriptional pathway. *Cell Metab.* 12, 352–361. doi:10.1016/j.cmet.2010.09.002
- Elenkov, I.J., 2004. Glucocorticoids and the Th1/Th2 Balance. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1024, 138–146. doi:10.1196/annals.1321.010
- Elliott, M.M., Kardana, A., Lustbader, J.W., Cole, L.A., 1997. Carbohydrate and peptide structure of the alpha- and beta-subunits of human chorionic gonadotropin from normal and aberrant pregnancy and choriocarcinoma. *Endocrine* 7, 15–32.
doi:10.1007/BF02778058
- Esnault, C., Priet, S., Ribet, D., Vernochet, C., Bruls, T., Laviaille, C., Weissenbach, J., Heidmann, T., 2008. A placenta-specific receptor for the fusogenic, endogenous retrovirus-derived, human syncytin-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 17532–17537. doi:10.1073/pnas.0807413105
- Eudy, J.D., Yao, S., Weston, M.D., Ma-Edmonds, M., Talmadge, C.B., Cheng, J.J., Kimberling, W.J., Sumegi, J., 1998. Isolation of a Gene Encoding a Novel Member of the Nuclear Receptor Superfamily from the Critical Region of Usher Syndrome Type IIa at 1q41. *Genomics* 50, 382–384. doi:10.1006/geno.1998.5345
- Evain-Brion, D., 2001. Les deux voies de différenciation du trophoblaste humain. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 29, 497–502. doi:10.1016/S1297-9589(01)00175-8
- Farr, O.M., Tsoukas, M.A., Mantzoros, C.S., 2014. Leptin and the brain: Influences on brain development, cognitive functioning and psychiatric disorders. *Metabolism.*
doi:10.1016/j.metabol.2014.07.004
- Fischer, I., Redel, S., Hofmann, S., Kuhn, C., Friese, K., Walzel, H., Jeschke, U., 2010. Stimulation of syncytium formation in vitro in human trophoblast cells by galectin-1. *Placenta* 31, 825–832. doi:10.1016/j.placenta.2010.06.016

- Fitzgerald, J.S., Busch, S., Wengenmayer, T., Foerster, K., de la Motte, T., Poehlmann, T.G., Markert, U.R., 2005. Signal transduction in trophoblast invasion. *Chem. Immunol. Allergy* 88, 181–199. doi:10.1159/000087834
- Fong, F.M., Sahemey, M.K., Hamed, G., Eyitayo, R., Yates, D., Kuan, V., Thangaratinam, S., Walton, R.T., 2014. Maternal genotype and severe preeclampsia: a HuGE review. *Am. J. Epidemiol.* 180, 335–345. doi:10.1093/aje/kwu151
- Fontana, V.A., Sanchez, M., Cebal, E., Calvo, J.C., 2010. Interleukin-1 beta regulates metalloproteinase activity and leptin secretion in a cytotrophoblast model. *Biocell Off. J. Soc. Latinoam. Microsc. Electron.* 34, 37–43.
- Forbes, K., West, G., Garside, R., Aplin, J.D., Westwood, M., 2009. The protein-tyrosine phosphatase, SRC homology-2 domain containing protein tyrosine phosphatase-2, is a crucial mediator of exogenous insulin-like growth factor signaling to human trophoblast. *Endocrinology* 150, 4744–4754. doi:10.1210/en.2009-0166
- Forbes, K., Westwood, M., Baker, P.N., Aplin, J.D., 2008. Insulin-like growth factor I and II regulate the life cycle of trophoblast in the developing human placenta. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 294, C1313–1322. doi:10.1152/ajpcell.00035.2008
- Fournier, T., Tsatsaris, V., Handschuh, K., Evain-Brion, D., 2007. PPARs and the placenta. *Placenta* 28, 65–76. doi:10.1016/j.placenta.2006.04.009
- Frendo, J.-L., Cronier, L., Bertin, G., Guibourdenche, J., Vidaud, M., Evain-Brion, D., Malassine, A., 2003a. Involvement of connexin 43 in human trophoblast cell fusion and differentiation. *J. Cell Sci.* 116, 3413–3421. doi:10.1242/jcs.00648
- Frendo, J.-L., Olivier, D., Cheynet, V., Blond, J.-L., Bouton, O., Vidaud, M., Rabreau, M., Evain-Brion, D., Mallet, F., 2003b. Direct involvement of HERV-W Env glycoprotein in human trophoblast cell fusion and differentiation. *Mol. Cell. Biol.* 23, 3566–3574.
- Fujimoto, J., Nakagawa, Y., Toyoki, H., Sakaguchi, H., Sato, E., Tamaya, T., 2005. Estrogen-related receptor expression in placenta throughout gestation. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 94, 67–69. doi:10.1016/j.jsbmb.2004.12.030
- Gandhari, M.K., Frazier, C.R., Hartenstein, J.S., Cloix, J.-F., Bernier, M., Wainer, I.W., 2010. Identification and characterization of estrogen receptor-related receptor alpha and gamma in human glioma and astrocytoma cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* 315, 314–318. doi:10.1016/j.mce.2009.10.001
- Gan, Z., Rumsey, J., Hazen, B.C., Lai, L., Leone, T.C., Vega, R.B., Xie, H., Conley, K.E., Auwerx, J., Smith, S.R., Olson, E.N., Kralli, A., Kelly, D.P., 2013. Nuclear receptor/microRNA circuitry links muscle fiber type to energy metabolism. *J. Clin. Invest.* 123, 2564–2575. doi:10.1172/JCI67652
- Gemma, C., Sookoian, S., Alvarriñas, J., García, S.I., Quintana, L., Kanevsky, D., González, C.D., Pirola, C.J., 2006. Mitochondrial DNA depletion in small- and large-for-gestational-age newborns. *Obes. Silver Spring Md* 14, 2193–2199. doi:10.1038/oby.2006.257
- George, E.M., Bidwell, G.L., 2013. STOX1 A New Player in Preeclampsia? *Hypertension* 61, 561–563. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00721
- Getsios, S., Chen, G.T., MacCalman, C.D., 2000. Regulation of beta-catenin mRNA and protein levels in human villous cytotrophoblasts undergoing aggregation and fusion in vitro: correlation with E-cadherin expression. *J. Reprod. Fertil.* 119, 59–68. doi:10.1530/jrf.0.1190059
- Gibson, K., Halliday, J.L., Kirby, D.M., Yapfite-Lee, J., Thorburn, D.R., Boneh, A., 2008. Mitochondrial oxidative phosphorylation disorders presenting in neonates: clinical

- manifestations and enzymatic and molecular diagnoses. *Pediatrics* 122, 1003–1008. doi:10.1542/peds.2007-3502
- Giguère, V., 2008. Transcriptional Control of Energy Homeostasis by the Estrogen-Related Receptors. *Endocr. Rev.* 29, 677–696. doi:10.1210/er.2008-0017
- Giguère, V., Yang, N., Segui, P., Evans, R.M., 1988. Identification of a new class of steroid hormone receptors. *Nature* 331, 91–94. doi:10.1038/331091a0
- Gillum, M.P., Erion, D.M., Shulman, G.I., 2010. Sirtuin-1 regulation of mammalian metabolism. *Trends Mol. Med.* doi:10.1016/j.molmed.2010.09.005
- Gispert, S., Parganlija, D., Klinkenberg, M., Dröse, S., Wittig, I., Mittelbronn, M., Grzmil, P., Koob, S., Hamann, A., Walter, M., Büchel, F., Adler, T., Angelis, M.H. de, Busch, D.H., Zell, A., Reichert, A.S., Brandt, U., Osiewacz, H.D., Jendrach, M., Auburger, G., 2013. Loss of mitochondrial peptidase Clpp leads to infertility, hearing loss plus growth retardation via accumulation of CLPX, mtDNA and inflammatory factors. *Hum. Mol. Genet.* 22, 4871–4887. doi:10.1093/hmg/ddt338
- Goffart, S., Wiesner, R.J., 2003. Regulation and co-ordination of nuclear gene expression during mitochondrial biogenesis. *Exp. Physiol.* 88, 33–40.
- Gourvas, V., Dalpa, E., Konstantinidou, A., Vrachnis, N., Spandidos, D.A., Sifakis, S., 2012. Angiogenic factors in placentas from pregnancies complicated by fetal growth restriction (review). *Mol. Med. Rep.* 6, 23–27. doi:10.3892/mmr.2012.898
- Gregory, A., 2011. Structural and Functional Characteristics of a Soluble Form of Endoglin in the Context of Preeclampsia.
- Guibourdenche, J., Handschuh, K., Tsatsaris, V., Gerbaud, P., Leguy, M.C., Muller, F., Brion, D.E., Fournier, T., 2010. Hyperglycosylated hCG is a marker of early human trophoblast invasion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 95, E240–244. doi:10.1210/jc.2010-0138
- Guibourdenche, J., Leguy, M.-C., Tsatsaris, V., 2013. [Biology and markers of preeclampsia]. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 71, 79–87. doi:10.1684/abc.2013.0903
- Gurha, P., Wang, T., Larimore, A.H., Sassi, Y., Abreu-Goodger, C., Ramirez, M.O., Reddy, A.K., Engelhardt, S., Taffet, G.E., Wehrens, X.H.T., Entman, M.L., Rodriguez, A., 2013. microRNA-22 Promotes Heart Failure through Coordinate Suppression of PPAR/ERR-Nuclear Hormone Receptor Transcription. *PLoS ONE* 8, e75882. doi:10.1371/journal.pone.0075882
- Guzeloglu-Kayisli, O., Kayisli, U.A., Taylor, H.S., 2009. The Role of Growth Factors and Cytokines during Implantation: Endocrine and Paracrine Interactions. *Semin. Reprod. Med.* 27, 62–79. doi:10.1055/s-0028-1108011
- Hafner, E., Metzenbauer, M., Höfinger, D., Munkel, M., Gassner, R., Schuchter, K., Dillinger-Paller, B., Philipp, K., 2003. Placental growth from the first to the second trimester of pregnancy in SGA-foetuses and pre-eclamptic pregnancies compared to normal foetuses. *Placenta* 24, 336–342.
- Haider, S., Meinhardt, G., Velicky, P., Otti, G.R., Whitley, G., Fiala, C., Pollheimer, J., Knöfler, M., 2014. Notch signaling plays a critical role in motility and differentiation of human first-trimester cytotrophoblasts. *Endocrinology* 155, 263–274. doi:10.1210/en.2013-1455
- Halasz, M., Szekeres-Bartho, J., 2013. The role of progesterone in implantation and trophoblast invasion. *J. Reprod. Immunol.*, Special issue covering highlights presented at the joint meeting of the European Society for Reproductive Immunology & the

- American Society for Reproductive Immunology in Hamburg (Germany), May 31 - June 02, 2012 97, 43–50. doi:10.1016/j.jri.2012.10.011
- Hamilton, G.S., Lysiak, J.J., Han, V.K., Lala, P.K., 1998. Autocrine-paracrine regulation of human trophoblast invasiveness by insulin-like growth factor (IGF)-II and IGF-binding protein (IGFBP)-1. *Exp. Cell Res.* 244, 147–156. doi:10.1006/excr.1998.4195
- Handsuh, K., Guibourdenche, J., Cocquebert, M., Tsatsaris, V., Vidaud, M., Evain-Brion, D., Fournier, T., 2009. Expression and regulation by PPARgamma of hCG alpha- and beta-subunits: comparison between villous and invasive extravillous trophoblastic cells. *Placenta* 30, 1016–1022. doi:10.1016/j.placenta.2009.09.006
- Handsuh, K., Guibourdenche, J., Tsatsaris, V., Guesnon, M., Laurendeau, I., Evain-Brion, D., Fournier, T., 2007. Human chorionic gonadotropin produced by the invasive trophoblast but not the villous trophoblast promotes cell invasion and is down-regulated by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *Endocrinology* 148, 5011–5019. doi:10.1210/en.2007-0286
- Handwerger, S., Freemark, M., 2000. The roles of placental growth hormone and placental lactogen in the regulation of human fetal growth and development. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab. JPEM* 13, 343–356.
- Hannon, T., Innes, B.A., Lash, G.E., Bulmer, J.N., Robson, S.C., 2012. Effects of local decidua on trophoblast invasion and spiral artery remodeling in focal placenta creta – An immunohistochemical study. *Placenta* 33, 998–1004. doi:10.1016/j.placenta.2012.09.004
- Hara, N., Fujii, T., Yamashita, T., Kozuma, S., Okai, T., Taketani, Y., 1996. Altered expression of human leukocyte antigen G (HLA-G) on extravillous trophoblasts in preeclampsia: immunohistological demonstration with anti-HLA-G specific antibody “87G” and anti-cytokeratin antibody “CAM5.2.” *Am. J. Reprod. Immunol. N. Y.* N 1989 36, 349–358.
- Hastie, R., Lappas, M., 2014. The effect of pre-existing maternal obesity and diabetes on placental mitochondrial content and electron transport chain activity. *Placenta* 35, 673–683. doi:10.1016/j.placenta.2014.06.368
- Hayward, M.D., Pötgens, A.J.G., Drewlo, S., Kaufmann, P., Rasko, J.E.J., 2007. Distribution of human endogenous retrovirus type W receptor in normal human villous placenta. *Pathology (Phila.)* 39, 406–412. doi:10.1080/00313020701444572
- Heard, D.J., Norby, P.L., Holloway, J., Vissing, H., 2000. Human ERRgamma, a third member of the estrogen receptor-related receptor (ERR) subfamily of orphan nuclear receptors: tissue-specific isoforms are expressed during development and in the adult. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 14, 382–392.
- Hemberger, M., 2008. IFPA Award in Placentology Lecture – Characteristics and Significance of Trophoblast Giant Cells. *Placenta, Placenta: Platform for Life* 29, Supplement, 4–9. doi:10.1016/j.placenta.2007.11.007
- Hentschke, M., Schulze, C., Süsens, U., Borgmeyer, U., 2005. Characterization of Calmodulin Binding to the Orphan Nuclear Receptor ERRγ. *Biol. Chem.* 384, 473–482. doi:10.1515/BC.2003.053
- Hoffmann, P., Saoudi, Y., Benharouga, M., Graham, C.H., Schaal, J.-P., Mazouni, C., Feige, J.-J., Alfaidy, N., 2009. Role of EG-VEGF in human placentation: Physiological and pathological implications. *J. Cell. Mol. Med.* 13, 2224–2235. doi:10.1111/j.1582-4934.2008.00554.x

- Hong, H., Yang, L., Stallcup, M.R., 1999. Hormone-independent Transcriptional Activation and Coactivator Binding by Novel Orphan Nuclear Receptor ERR3. *J. Biol. Chem.* 274, 22618–22626. doi:10.1074/jbc.274.32.22618
- Hubert, M.A., Sherritt, S.L., Bachurski, C.J., Handwerger, S., 2010. Involvement of transcription factor NR2F2 in human trophoblast differentiation. *PLoS One* 5, e9417. doi:10.1371/journal.pone.0009417
- Hu, D., Cross, J.C., 2010. Development and function of trophoblast giant cells in the rodent placenta. *Int. J. Dev. Biol.* 54, 341–354. doi:10.1387/ijdb.082768dh
- Humphrey, R.G., Sonnenberg-Hirche, C., Smith, S.D., Hu, C., Barton, A., Sadovsky, Y., Nelson, D.M., 2008. Epidermal Growth Factor Abrogates Hypoxia-Induced Apoptosis in Cultured Human Trophoblasts through Phosphorylation of BAD Serine 112. *Endocrinology* 149, 2131–2137. doi:10.1210/en.2007-1253
- Huppertz, B., Kadyrov, M., Kingdom, J.C.P., 2006. Apoptosis and its role in the trophoblast. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 195, 29–39. doi:10.1016/j.ajog.2005.07.039
- Huppertz, B., Kertschanska, S., Demir, A.Y., Frank, H.G., Kaufmann, P., 1998. Immunohistochemistry of matrix metalloproteinases (MMP), their substrates, and their inhibitors (TIMP) during trophoblast invasion in the human placenta. *Cell Tissue Res.* 291, 133–148.
- Hupponen, J., Aarnisalo, P., 2004. Dimerization modulates the activity of the orphan nuclear receptor ERRgamma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 314, 964–970.
- Hupponen, J., Wohlfahrt, G., Aarnisalo, P., 2004. Requirements for transcriptional regulation by the orphan nuclear receptor ERRgamma. *Mol. Cell. Endocrinol.* 219, 151–160. doi:10.1016/j.mce.2004.01.002
- Husse, S., Gottschlich, A., Schrey, S., Stepan, H., Hoffmann, J., 2014. [Predictive value of the sFlt1/PlGF ratio for the diagnosis of preeclampsia in high-risk patients]. *Z. Für Geburtshilfe Neonatol.* 218, 34–41. doi:10.1055/s-0034-1368713
- Huss, J.M., Kopp, R.P., Kelly, D.P., 2002. Peroxisome Proliferator-activated Receptor Coactivator-1α (PGC-1α) Coactivates the Cardiac-enriched Nuclear Receptors Estrogen-related Receptor-α and -γ IDENTIFICATION OF NOVEL LEUCINE-RICH INTERACTION MOTIF WITHIN PGC-1α. *J. Biol. Chem.* 277, 40265–40274. doi:10.1074/jbc.M206324200
- Illsinger, S., Janzen, N., Sander, S., Schmidt, K.-H., Bednarczyk, J., Mallunat, L., Bode, J., Hageböling, F., Hoy, L., Lücke, T., Hass, R., Das, A.M., 2010. Preeclampsia and HELLP syndrome: impaired mitochondrial function in umbilical endothelial cells. *Reprod. Sci. Thousand Oaks Calif* 17, 219–226. doi:10.1177/1933719109351597
- Irving, J.A., Lala, P.K., 1995. Functional role of cell surface integrins on human trophoblast cell migration: regulation by TGF-beta, IGF-II, and IGFBP-1. *Exp. Cell Res.* 217, 419–427. doi:10.1006/excr.1995.1105
- Irwin, J.C., Giudice, L.C., 1998. Insulin-like growth factor binding protein-1 binds to placental cytotrophoblast alpha5beta1 integrin and inhibits cytotrophoblast invasion into decidualized endometrial stromal cultures. *Growth Horm. IGF Res. Off. J. Growth Horm. Res. Soc. Int. IGF Res. Soc.* 8, 21–31.
- Islami, D., Bischof, P., Chardonens, D., 2003. Possible interactions between leptin, gonadotrophin-releasing hormone (GnRH-I and II) and human chorionic gonadotrophin (hCG). *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 110, 169–175.
- Janzen, C., Lei, M.Y.Y., Cho, J., Sullivan, P., Shin, B.-C., Devaskar, S.U., 2013. Placental glucose transporter 3 (GLUT3) is up-regulated in human pregnancies complicated by late-

- onset intrauterine growth restriction. *Placenta* 34, 1072–1078.
doi:10.1016/j.placenta.2013.08.010
- Jasper, M.J., Tremellen, K.P., Robertson, S.A., 2007. Reduced expression of IL-6 and IL-1 α mRNAs in secretory phase endometrium of women with recurrent miscarriage. *J. Reprod. Immunol.* 73, 74–84. doi:10.1016/j.jri.2006.06.003
- Jeong, B.-C., Lee, Y.-S., Park, Y.-Y., Bae, I.-H., Kim, D.-K., Koo, S.-H., Choi, H.-R., Kim, S.-H., Franceschi, R.T., Koh, J.-T., Choi, H.-S., 2009. The orphan nuclear receptor estrogen receptor-related receptor gamma negatively regulates BMP2-induced osteoblast differentiation and bone formation. *J. Biol. Chem.* 284, 14211–14218.
doi:10.1074/jbc.M808345200
- Jeong, J.-W., Kwak, I., Lee, K.Y., White, L.D., Wang, X.-P., Brunicardi, F.C., O'Malley, B.W., DeMayo, F.J., 2006. The genomic analysis of the impact of steroid receptor coactivators ablation on hepatic metabolism. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 20, 1138–1152. doi:10.1210/me.2005-0407
- Jiang, T., Yin, F., Yao, J., Brinton, R.D., Cadenas, E., 2013. Lipoic acid restores age-associated impairment of brain energy metabolism through the modulation of Akt/JNK signaling and PGC1 α transcriptional pathway. *Aging Cell* 12, 1021–1031.
doi:10.1111/accel.12127
- Kang, Y.S., 2013. Obesity Associated Hypertension: New Insights into Mechanism. *Electrolytes Blood Press. E BP* 11, 46–52. doi:10.5049/EBP.2013.11.2.46
- Karimi, P., Hematti, S., Safari, F., Tavassoli, M., 2013. Polymorphic AAAG Repeat Length in Estrogen-Related Receptor Gamma (ERR γ) and Risk of Breast Cancer in Iranian Women. *Cancer Invest.* doi:10.3109/07357907.2013.845672
- Kedzia, A., Tarka, A., Petriczko, E., Pruski, D., Iwaniec, K., 2013. Placental growth hormone (PGH), pituitary growth hormone (GH1), insulin-like growth factor (IGF-I) and ghrelin in pregnant women's blood serum. *Ginekol. Pol.* 84, 620–623.
- Keikkala, E., Ranta, J.K., Vuorela, P., Leinonen, R., Laivuori, H., Väisänen, S., Marttala, J., Romppanen, J., Pulkki, K., Stenman, U.-H., Heinonen, S., 2014. Serum hyperglycosylated human chorionic gonadotrophin at 14-17 weeks of gestation does not predict preeclampsia. *Prenat. Diagn.* 34, 699–705. doi:10.1002/pd.4335
- Keikkala, E., Vuorela, P., Laivuori, H., Romppanen, J., Heinonen, S., Stenman, U.-H., 2013. First trimester hyperglycosylated human chorionic gonadotrophin in serum - a marker of early-onset preeclampsia. *Placenta* 34, 1059–1065.
doi:10.1016/j.placenta.2013.08.006
- Kheshtchin, N., Gharagozloo, M., Andalib, A., Ghahiri, A., Maracy, M.R., Rezaei, A., 2010. The Expression of Th1- and Th2-Related Chemokine Receptors in Women with Recurrent Miscarriage: the Impact of Lymphocyte Immunotherapy. *Am. J. Reprod. Immunol.* 64, 104–112. doi:10.1111/j.1600-0897.2010.00829.x
- Khong, T.Y., De Wolf, F., Robertson, W.B., Brosens, I., 1986. Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by pre-eclampsia and by small-for-gestational age infants. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 93, 1049–1059.
- Kim, D.-K., Kim, Y.-H., Hynx, D., Wang, Y., Yang, K.-J., Ryu, D., Kim, K.S., Yoo, E.-K., Kim, J.-S., Koo, S.-H., Lee, I.-K., Chae, H.-Z., Park, J., Lee, C.-H., Biddinger, S.B., Hemmings, B.A., Choi, H.-S., 2014. PKB/Akt phosphorylation of ERR γ contributes to insulin-mediated inhibition of hepatic gluconeogenesis. *Diabetologia.* doi:10.1007/s00125-014-3366-x
- Kim, D.-K., Ryu, D., Koh, M., Lee, M.-W., Lim, D., Kim, M.-J., Kim, Y.-H., Cho, W.-J., Lee, C.-H., Park, S.B., Koo, S.-H., Choi, H.-S., 2012. Orphan nuclear receptor estrogen-related

- receptor γ (ERR γ) is key regulator of hepatic gluconeogenesis. *J. Biol. Chem.* 287, 21628–21639. doi:10.1074/jbc.M111.315168
- Kim, E.-J., Kang, I.-H., Lee, J.W., Jang, W.-G., Koh, J.-T., 2013. MiR-433 mediates ERR γ -suppressed osteoblast differentiation via direct targeting to Runx2 mRNA in C3H10T1/2 cells. *Life Sci.* 92, 562–568. doi:10.1016/j.lfs.2013.01.015
- Knöfler, M., 2010. Critical growth factors and signalling pathways controlling human trophoblast invasion. *Int. J. Dev. Biol.* 54, 269–280. doi:10.1387/ijdb.082769mk
- Knöfler, M., Saleh, L., Bauer, S., Galos, B., Rotheneder, H., Husslein, P., Helmer, H., 2004. Transcriptional regulation of the human chorionic gonadotropin beta gene during villous trophoblast differentiation. *Endocrinology* 145, 1685–1694. doi:10.1210/en.2003-0954
- Kojima, K., Kanzaki, H., Iwai, M., Hatayama, H., Fujimoto, M., Inoue, T., Horie, K., Nakayama, H., Fujita, J., Mori, T., 1994. Expression of leukemia inhibitory factor in human endometrium and placenta. *Biol. Reprod.* 50, 882–887.
- Kojo, H., Tajima, K., Fukagawa, M., Isogai, T., Nishimura, S., 2006. A novel estrogen receptor-related protein γ splice variant lacking a DNA binding domain exon modulates transcriptional activity of a moderate range of nuclear receptors. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 98, 181–192. doi:10.1016/j.jsbmb.2005.10.004
- Kokkinos, M.I., Murthi, P., Wafai, R., Thompson, E.W., Newgreen, D.F., 2010. Cadherins in the human placenta – epithelial–mesenchymal transition (EMT) and placental development. *Placenta* 31, 747–755. doi:10.1016/j.placenta.2010.06.017
- Kovac, S., Angelova, P.R., Holmström, K.M., Zhang, Y., Dinkova-Kostova, A.T., Abramov, A.Y., 2015. Nrf2 regulates ROS production by mitochondria and NADPH oxidase. *Biochim. Biophys. Acta* 1850, 794–801. doi:10.1016/j.bbagen.2014.11.021
- Kovalevskaya, G., Genbacev, O., Fisher, S.J., Caceres, E., O'Connor, J.F., 2002. Trophoblast origin of hCG isoforms: cytotrophoblasts are the primary source of choriocarcinoma-like hCG. *Mol. Cell. Endocrinol.* 194, 147–155. doi:10.1016/S0303-7207(02)00135-1
- Kovo, M., Schreiber, L., Bar, J., 2013. Placental vascular pathology as a mechanism of disease in pregnancy complications. *Thromb. Res., Papers and Abstracts of the 5th International Symposium on Women's Health Issues in Thrombosis and Haematosi* 131, Supplement 1, S18–S21. doi:10.1016/S0049-3848(13)70013-6
- Kubo, M., Ijichi, N., Ikeda, K., Horie-Inoue, K., Takeda, S., Inoue, S., 2009. Modulation of adipogenesis-related gene expression by estrogen-related receptor gamma during adipocytic differentiation. *Biochim. Biophys. Acta* 1789, 71–77. doi:10.1016/j.bbagrm.2008.08.012
- Kubota, N., Terauchi, Y., Miki, H., Tamemoto, H., Yamauchi, T., Komeda, K., Satoh, S., Nakano, R., Ishii, C., Sugiyama, T., Eto, K., Tsubamoto, Y., Okuno, A., Murakami, K., Sekihara, H., Hasegawa, G., Naito, M., Toyoshima, Y., Tanaka, S., Shiota, K., Kitamura, T., Fujita, T., Ezaki, O., Aizawa, S., Kadowaki, T., 1999. PPAR gamma mediates high-fat diet-induced adipocyte hypertrophy and insulin resistance. *Mol. Cell* 4, 597–609.
- Kumar, P., Kamat, A., Mendelson, C.R., 2009. Estrogen receptor alpha (ERalpha) mediates stimulatory effects of estrogen on aromatase (CYP19) gene expression in human placenta. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 23, 784–793. doi:10.1210/me.2008-0371
- Kumar, P., Mendelson, C.R., 2011. Estrogen-related receptor gamma (ERRgamma) mediates oxygen-dependent induction of aromatase (CYP19) gene expression during human trophoblast differentiation. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 25, 1513–1526. doi:10.1210/me.2011-1012

- Lacey, H., Haigh, T., Westwood, M., Aplin, J.D., 2002. Mesenchymally-derived insulin-like growth factor 1 provides a paracrine stimulus for trophoblast migration. *BMC Dev. Biol.* 2, 5.
- Lacroix, M.-C., Guibourdenche, J., Fournier, T., Laurendeau, I., Igout, A., Goffin, V., Pantel, J., Tsatsaris, V., Evain-Brion, D., 2005. Stimulation of human trophoblast invasion by placental growth hormone. *Endocrinology* 146, 2434–2444. doi:10.1210/en.2004-1550
- Landmann, E., Reiss, I., Misselwitz, B., Gortner, L., 2006. Ponderal index for discrimination between symmetric and asymmetric growth restriction: Percentiles for neonates from 30 weeks to 43 weeks of gestation. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 19, 157–160. doi:10.1080/14767050600624786
- Lash, G.E., Warren, A.Y., Underwood, S., Baker, P.N., 2003. Vascular endothelial growth factor is a chemoattractant for trophoblast cells. *Placenta* 24, 549–556.
- Lattuada, D., Colleoni, F., Martinelli, A., Garretto, A., Magni, R., Radaelli, T., Cetin, I., 2008. Higher Mitochondrial DNA Content in Human IUGR Placenta. *Placenta* 29, 1029–1033. doi:10.1016/j.placenta.2008.09.012
- Lavillette, D., Marin, M., Ruggieri, A., Mallet, F., Cosset, F.-L., Kabat, D., 2002. The envelope glycoprotein of human endogenous retrovirus type W uses a divergent family of amino acid transporters/cell surface receptors. *J. Virol.* 76, 6442–6452.
- Le Bouteiller, P., Tabiasco, J., 2006. Immunologie de la grossesse : faits nouveaux. *médecine/sciences* 22, 745–750. doi:10.1051/medsci/20062289745
- Leduc, K., Bourassa, V., Asselin, E., Leclerc, P., Lafond, J., Reyes-Moreno, C., 2012. Leukemia inhibitory factor regulates differentiation of trophoblastlike BeWo cells through the activation of JAK/STAT and MAPK3/1 MAP kinase-signaling pathways. *Biol. Reprod.* 86, 54. doi:10.1095/biolreprod.111.094334
- Lee, C.-L., Chiu, P.C.N., Hautala, L., Salo, T., Yeung, W.S.B., Stenman, U.-H., Koistinen, H., 2013. Human chorionic gonadotropin and its free β -subunit stimulate trophoblast invasion independent of LH/hCG receptor. *Mol. Cell. Endocrinol.* 375, 43–52. doi:10.1016/j.mce.2013.05.009
- Lee, J.H., Kim, E.-J., Kim, D.-K., Lee, J.-M., Park, S.B., Lee, I.-K., Harris, R.A., Lee, M.-O., Choi, H.-S., 2012. Hypoxia Induces PDK4 Gene Expression through Induction of the Orphan Nuclear Receptor ERR γ . *PLoS ONE* 7, e46324. doi:10.1371/journal.pone.0046324
- Lehman, J.J., Kelly, D.P., 2002. Transcriptional Activation Of Energy Metabolic Switches In The Developing And Hypertrophied Heart. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 29, 339–345. doi:10.1046/j.1440-1681.2002.03655.x
- Leisser, C., Saleh, L., Haider, S., Husslein, H., Sonderegger, S., Knöfler, M., 2006. Tumour necrosis factor-alpha impairs chorionic gonadotrophin beta-subunit expression and cell fusion of human villous cytotrophoblast. *Mol. Hum. Reprod.* 12, 601–609. doi:10.1093/molehr/gal066
- LE PENNEC, S., 2010. VOIES DE REGULATION DE LA FONCTION MITOCHONDRIALE DANS LES MODELES DE TUMEURS THYROÏDIENNES. UNIVERSITE D'ANGERS, Unité INSERM U694, Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU, 4 rue Larrey, 49033 ANGERS Cedex 01.
- Liang, C.-Y., Wang, L.-J., Chen, C.-P., Chen, L.-F., Chen, Y.-H., Chen, H., 2010. GCM1 regulation of the expression of syncytin 2 and its cognate receptor MFSD2A in human placenta. *Biol. Reprod.* 83, 387–395. doi:10.1095/biolreprod.110.083915

- Lillycrop, K.A., Phillips, E.S., Jackson, A.A., Hanson, M.A., Burdge, G.C., 2005. Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. *J. Nutr.* 135, 1382–1386.
- Linton, E.A., Rodriguez-Linares, B., Rashid-Doubell, F., Ferguson, D.J.P., Redman, C.W.G., 2003. Caveolae and caveolin-1 in human term villous trophoblast. *Placenta* 24, 745–757.
- Li, R.H., Zhuang, L.Z., 1997. The effects of growth factors on human normal placental cytotrophoblast cell proliferation. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 12, 830–834.
- Liu, H.-Y., Jia, X.-Q., Gao, L.-X., Ma, Y.-Y., 2012. Hepatocyte growth factor regulates HLX1 gene expression to modulate HTR-8/SVneo trophoblast cells. *Reprod. Biol. Endocrinol. RBE* 10, 83. doi:10.1186/1477-7827-10-83
- Liu, J., Wang, P., Luo, J., Huang, Y., He, L., Yang, H., Li, Q., Wu, S., Zhelyabovska, O., Yang, Q., 2011. Peroxisome proliferator-activated receptor β/δ activation in adult hearts facilitates mitochondrial function and cardiac performance under pressure-overload condition. *Hypertension* 57, 223–230. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.164590
- Liu, S., Wang, J., Qin, H.-M., Yan, X.-M., Yang, X.-S., Liu, C., Yan, Q., 2014. LIF upregulates poFUT1 expression and promotes trophoblast cell migration and invasion at the fetal-maternal interface. *Cell Death Dis.* 5, e1396. doi:10.1038/cddis.2014.335
- Li, W., Mata, K.M., Mazzuca, M.Q., Khalil, R.A., 2014. Altered matrix metalloproteinase-2 and -9 expression/activity links placental ischemia and anti-angiogenic sFlt-1 to uteroplacental and vascular remodeling and collagen deposition in hypertensive pregnancy. *Biochem. Pharmacol.* 89, 370–385. doi:10.1016/j.bcp.2014.03.017
- Li, Y., Padmanabha, D., Gentile, L.B., Dumur, C.I., Beckstead, R.B., Baker, K.D., 2013. HIF- and non-HIF-regulated hypoxic responses require the estrogen-related receptor in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genet.* 9, e1003230. doi:10.1371/journal.pgen.1003230
- Louet, J.-F., Hayhurst, G., Gonzalez, F.J., Girard, J., Decaux, J.-F., 2002. The coactivator PGC-1 is involved in the regulation of the liver carnitine palmitoyltransferase I gene expression by cAMP in combination with HNF4 α and cAMP-response element-binding protein (CREB). *J. Biol. Chem.* 277, 37991–38000. doi:10.1074/jbc.M205087200
- Lunghi, L., Ferretti, M.E., Medici, S., Biondi, C., Vesce, F., 2007. Control of human trophoblast function. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 5, 6. doi:10.1186/1477-7827-5-6
- Luo, J., Sladek, R., Bader, J.A., Matthyssen, A., Rossant, J., Giguère, V., 1997. Placental abnormalities in mouse embryos lacking the orphan nuclear receptor ERR- β . *Nature* 388, 778–782. doi:10.1038/42022
- Luo, J., Sladek, R., Carrier, J., Bader, J.-A., Richard, D., Giguère, V., 2003. Reduced fat mass in mice lacking orphan nuclear receptor estrogen-related receptor α . *Mol. Cell. Biol.* 23, 7947–7956.
- Luo, Y., Kumar, P., Chen, C.-C., Latham, J., Wang, L., Tudela, C., Alexander, J.M., Shelton, J.M., McKown, L., Mendelson, C.R., 2014. Estrogen-related Receptor γ (ERR γ) Serves a Role in Blood Pressure Homeostasis during Pregnancy. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* me20141003. doi:10.1210/me.2014-1003
- Luo, Y., Kumar, P., Mendelson, C.R., 2013. Estrogen-Related Receptor γ (ERR γ) Regulates Oxygen-Dependent Expression of Voltage-gated Potassium (K $^{+}$) Channels and Tissue

- Kallikrein during Human Trophoblast Differentiation. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 27, 940–952. doi:10.1210/me.2013-1038
- Lyall, F., 2005. Priming and remodelling of human placental bed spiral arteries during pregnancy – A Review. *Placenta, Trophoblast Research. Placenta:Signaling and the Placenta* 26, Supplement, S31–S36. doi:10.1016/j.placenta.2005.02.010
- Maciolek, J.A., Pasternak, J.A., Wilson, H.L., 2014. Metabolism of activated T lymphocytes. *Curr. Opin. Immunol.* 27, 60–74. doi:10.1016/j.coi.2014.01.006
- Magariños, M.P., Sánchez-Margalet, V., Kotler, M., Calvo, J.C., Varone, C.L., 2007. Leptin promotes cell proliferation and survival of trophoblastic cells. *Biol. Reprod.* 76, 203–210. doi:10.1095/biolreprod.106.051391
- Malassiné, A., Blaise, S., Handschuh, K., Lalucque, H., Dupressoir, A., Evain-Brion, D., Heidmann, T., 2007. Expression of the fusogenic HERV-FRD Env glycoprotein (syncytin 2) in human placenta is restricted to villous cytotrophoblastic cells. *Placenta* 28, 185–191. doi:10.1016/j.placenta.2006.03.001
- Mandò, C., De Palma, C., Stampalija, T., Anelli, G.M., Figus, M., Novielli, C., Parisi, F., Clementi, E., Ferrazzi, E., Cetin, I., 2014. Placental mitochondrial content and function in intrauterine growth restriction and preeclampsia. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* 306, E404–E413. doi:10.1152/ajpendo.00426.2013
- Massova, I., Kotra, L.P., Fridman, R., Mobashery, S., 1998. Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 12, 1075–1095.
- Matsakas, A., Yadav, V., Lorca, S., Evans, R.M., Narkar, V.A., 2012. Revascularization of ischemic skeletal muscle by estrogen-related receptor- γ . *Circ. Res.* 110, 1087–1096. doi:10.1161/CIRCRESAHA.112.266478
- Matsubara, S., Minakami, H., Sato, I., Saito, T., 1997. Decrease in cytochrome c oxidase activity detected cytochemically in the placental trophoblast of patients with pre-eclampsia. *Placenta* 18, 255–259. doi:10.1016/S0143-4004(97)80059-8
- Matsubara, S., Minakami, H., Sato, I., Saito, T., 1997. Decrease in cytochrome c oxidase activity detected cytochemically in the placental trophoblast of patients with pre-eclampsia. *Placenta* 18, 255–259.
- Ma, X., Gao, F., Rusie, A., Hemingway, J., Ostmann, A.B., Sroga, J.M., Jegga, A.G., Das, S.K., 2011. Decidual Cell Polyploidization Necessitates Mitochondrial Activity. *PLoS ONE* 6, e26774. doi:10.1371/journal.pone.0026774
- Mayeur, S., Lancel, S., Theys, N., Lukaszewski, M.-A., Duban-Deweere, S., Bastide, B., Hachani, J., Cecchelli, R., Breton, C., Gabory, A., Storme, L., Reusens, B., Junien, C., Vieau, D., Lesage, J., 2013. Maternal calorie restriction modulates placental mitochondrial biogenesis and bioenergetic efficiency: putative involvement in fetoplacental growth defects in rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 304, E14–22. doi:10.1152/ajpendo.00332.2012
- May, F., 2014. Novel drugs that target the estrogen-related receptor alpha: their therapeutic potential in breast cancer. *Cancer Manag. Res.* 225. doi:10.2147/CMAR.S35024
- Maymó, J.L., Pérez Pérez, A., Gambino, Y., Calvo, J.C., Sánchez-Margalet, V., Varone, C.L., 2011. Review: Leptin gene expression in the placenta – Regulation of a key hormone in trophoblast proliferation and survival. *Placenta* 32, Supplement 2, S146–S153. doi:10.1016/j.placenta.2011.01.004
- Maynard, S.E., Min, J.-Y., Merchan, J., Lim, K.-H., Li, J., Mondal, S., Libermann, T.A., Morgan, J.P., Sellke, F.W., Stillman, I.E., Epstein, F.H., Sukhatme, V.P., Karumanchi, S.A., 2003.

- Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J. Clin. Invest.* 111, 649–658. doi:10.1172/JCI17189
- McKinnon, T., Chakraborty, C., Gleeson, L.M., Chidiac, P., Lala, P.K., 2001. Stimulation of human extravillous trophoblast migration by IGF-II is mediated by IGF type 2 receptor involving inhibitory G protein(s) and phosphorylation of MAPK. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86, 3665–3674. doi:10.1210/jcem.86.8.7711
- Meinhardt, G., Haider, S., Haslinger, P., Proestling, K., Fiala, C., Pollheimer, J., Knöfler, M., 2014. Wnt-dependent T-cell factor-4 controls human extravillous trophoblast motility. *Endocrinology* 155, 1908–1920. doi:10.1210/en.2013-2042
- Mele, J., Muralimanoharan, S., Maloyan, A., Myatt, L., 2014. Impaired mitochondrial function in human placenta with increased maternal adiposity. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* 307, E419–E425. doi:10.1152/ajpendo.00025.2014
- Merviel, P., Challier, J.C., Carbillon, L., Foidart, J.M., Uzan, S., 2001. The role of integrins in human embryo implantation. *Fetal Diagn. Ther.* 16, 364–371. doi:53942
- Michael, A.E., Papageorgiou, A.T., 2008. Potential significance of physiological and pharmacological glucocorticoids in early pregnancy. *Hum. Reprod. Update* 14, 497–517. doi:10.1093/humupd/dmn021
- Miko, E., Halasz, M., Jericevic-Mulac, B., Wicherek, L., Arck, P., Arató, G., Skret Magierlo, J., Rukavina, D., Szekeres-Bartho, J., 2011. Progesterone-induced blocking factor (PIBF) and trophoblast invasiveness. *J. Reprod. Immunol.* 90, 50–57. doi:10.1016/j.jri.2011.03.005
- Miller, H.C., Hassanein, K., Hensleigh, P.A., 1976. Fetal growth retardation in relation to maternal smoking and weight gain in pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 125, 55–60.
- Miller-Lindholm, A.K., LaBenz, C.J., Ramey, J., Bedows, E., Ruddon, R.W., 1997. Human Chorionic Gonadotropin- β Gene Expression in First Trimester Placenta. *Endocrinology* 138, 5459–5465. doi:10.1210/endo.138.12.5618
- Misra, J., Kim, D.-K., Choi, W., Koo, S.-H., Lee, C.-H., Back, S.-H., Kaufman, R.J., Choi, H.-S., 2013. Transcriptional cross talk between orphan nuclear receptor ERR γ and transmembrane transcription factor ATF6 α coordinates endoplasmic reticulum stress response. *Nucleic Acids Res.* 41, 6960–6974. doi:10.1093/nar/gkt429
- Moindjie, H., Dos Santos, E., Loeuillet, L., Gronier, H., de Mazancourt, P., Barnea, E., Vialard, F., Dieudonne, M.-N., 2014. Preimplantation Factor (PIF) Promotes Human Trophoblast Invasion. *Biol. Reprod.* doi:10.1095/biolreprod.114.119156
- Morice, L., Benaîtreau, D., Dieudonné, M.-N., Morvan, C., Serazin, V., de Mazancourt, P., Pecquery, R., Dos Santos, E., 2011. Antiproliferative and proapoptotic effects of bisphenol A on human trophoblastic JEG-3 cells. *Reprod. Toxicol. Elmsford N* 32, 69–76. doi:10.1016/j.reprotox.2011.05.003
- Morrish, D.W., Dakour, J., Li, H., 1998. Functional regulation of human trophoblast differentiation. *J. Reprod. Immunol.* 39, 179–195.
- Mosaferi, E., Majidi, J., Mohammadian, M., Babaloo, Z., Monfaredan, A., Baradaran, B., 2013. HLA-G Expression Pattern: Reliable Assessment for Pregnancy Outcome Prediction. *Adv. Pharm. Bull.* 3, 443–446. doi:10.5681/apb.2013.072
- Mund, M., Louwen, F., Klingelhofer, D., Gerber, A., 2013. Smoking and pregnancy--a review on the first major environmental risk factor of the unborn. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 10, 6485–6499. doi:10.3390/ijerph10126485

- Muralimanoharan, S., Maloyan, A., Mele, J., Guo, C., Myatt, L.G., Myatt, L., 2012. MIR-210 modulates mitochondrial respiration in placenta with preeclampsia. *Placenta* 33, 816–823. doi:10.1016/j.placenta.2012.07.002
- Murray, J., Auwerx, J., Huss, J.M., 2013. Impaired myogenesis in estrogen-related receptor γ (ERR γ)-deficient skeletal myocytes due to oxidative stress. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 27, 135–150. doi:10.1096/fj.12-212290
- Nadeem, L., Munir, S., Fu, G., Dunk, C., Baczyk, D., Caniggia, I., Lye, S., Peng, C., 2011. Nodal signals through activin receptor-like kinase 7 to inhibit trophoblast migration and invasion: implication in the pathogenesis of preeclampsia. *Am. J. Pathol.* 178, 1177–1189. doi:10.1016/j.ajpath.2010.11.066
- Nadra, K., Quignodon, L., Sardella, C., Joye, E., Mucciolo, A., Chrast, R., Desvergne, B., 2010. PPAR γ in placental angiogenesis. *Endocrinology* 151, 4969–4981. doi:10.1210/en.2010-0131
- Nalabolu, M.R., Palasamudram, K., Jamil, K., 2014. Adiponectin and leptin molecular actions and clinical significance in breast cancer. *Int. J. Hematol.-Oncol. Stem Cell Res.* 8, 31–40.
- Nardoza, L.M.M., Araujo Júnior, E., Barbosa, M.M., Caetano, A.C.R., Lee, D.J.R., Moron, A.F., 2012. Fetal growth restriction: current knowledge to the general Obs/Gyn. *Arch. Gynecol. Obstet.* 286, 1–13. doi:10.1007/s00404-012-2330-6
- Netchine, I., Azzi, S., Le Bouc, Y., Savage, M.O., 2011. IGF1 molecular anomalies demonstrate its critical role in fetal, postnatal growth and brain development. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 25, 181–190. doi:10.1016/j.beem.2010.08.005
- Newhouse, S.M., Davidge, S.T., Winkler-Lowen, B., Demianczuk, N., Guilbert, L.J., 2007. In vitro differentiation of villous trophoblasts from pregnancies complicated by intrauterine growth restriction with and without pre-eclampsia. *Placenta* 28, 999–1003. doi:10.1016/j.placenta.2007.04.008
- O'Connor, C., Stuart, B., Fitzpatrick, C., Turner, M.J., Kennelly, M.M., 2013. A review of contemporary modalities for identifying abnormal fetal growth. *J. Obstet. Gynaecol.* 33, 239–245. doi:10.3109/01443615.2012.753423
- Oka, S., Zhai, P., Alcendor, R., Park, J.Y., Tian, B., Sadoshima, J., 2012. Suppression of ERR targets by a PPAR α /Sirt1 complex in the failing heart. *Cell Cycle Georget. Tex* 11, 856–864. doi:10.4161/cc.11.5.19210
- Palazon, A., Goldrath, A.W., Nizet, V., Johnson, R.S., 2014. HIF Transcription Factors, Inflammation, and Immunity. *Immunity* 41, 518–528. doi:10.1016/j.immuni.2014.09.008
- Pang, W., Zhang, Y., Zhao, N., Darwiche, S.S., Fu, X., Xiang, W., 2013. Low expression of Mfn2 is associated with mitochondrial damage and apoptosis in the placental villi of early unexplained miscarriage. *Placenta* 34, 613–618. doi:10.1016/j.placenta.2013.03.013
- Parvez, H., Ismahan, G., Parvez, S., 1976. Foetal growth retardation and mortality by chronic dexamethasone administration to pregnant rats. *J. Endocrinol.* 71, 159–160.
- Pathirage, N.A., Cocquebert, M., Sadovsky, Y., Abumaree, M., Manuelpillai, U., Borg, A., Keogh, R.J., Brennecke, S.P., Evain-Brion, D., Fournier, T., Kalionis, B., Murthi, P., 2013. Homeobox gene transforming growth factor β -induced factor-1 (TGIF-1) is a regulator of villous trophoblast differentiation and its expression is increased in human idiopathic fetal growth restriction. *Mol. Hum. Reprod.* 19, 665–675. doi:10.1093/molehr/gat042

- Peleg, D., Kennedy, C.M., Hunter, S.K., 1998. Intrauterine growth restriction: identification and management. *Am. Fam. Physician* 58, 453–460, 466–467.
- Peng, L., Huang, Y., Jin, F., Jiang, S.-W., Payne, A.H., 2004. Transcription enhancer factor-5 and a GATA-like protein determine placental-specific expression of the Type I human 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase gene, HSD3B1. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 18, 2049–2060. doi:10.1210/me.2004-0028
- Pepe, G.J., Davies, W.A., Dong, K.W., Luo, H., Albrecht, E.D., 1999. Cloning of the 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase (11beta-HSD)-2 gene in the baboon: effects of estradiol on promoter activity of 11beta-HSD-1 and -2 in placental JEG-3 cells. *Biochim. Biophys. Acta* 1444, 101–110.
- Philchenkov, A., 2004. Caspases: potential targets for regulating cell death. *J. Cell. Mol. Med.* 8, 432–444. doi:10.1111/j.1582-4934.2004.tb00468.x
- Picard, M., Shirihai, O.S., Gentil, B.J., Burelle, Y., 2013. Mitochondrial morphology transitions and functions: implications for retrograde signaling? *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* 304, R393–R406. doi:10.1152/ajpregu.00584.2012
- Pidoux, G., Gerbaud, P., Cocquebert, M., Segond, N., Badet, J., Fournier, T., Guibourdenche, J., Evain-Brion, D., 2012. Review: Human trophoblast fusion and differentiation: lessons from trisomy 21 placenta. *Placenta* 33 Suppl, S81–86. doi:10.1016/j.placenta.2011.11.007
- Pidoux, G., Gerbaud, P., Gnidehou, S., Grynberg, M., Geneau, G., Guibourdenche, J., Carette, D., Cronier, L., Evain-Brion, D., Malassiné, A., Frendo, J.-L., 2010. ZO-1 is involved in trophoblastic cell differentiation in human placenta. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 298, C1517–1526. doi:10.1152/ajpcell.00484.2008
- Pollheimer, J., Knöfler, M., 2005. Signalling pathways regulating the invasive differentiation of human trophoblasts: a review. *Placenta* 26, Supplement, S21–S30. doi:10.1016/j.placenta.2004.11.013
- Prossler, J., Chen, Q., Chamley, L., James, J.L., 2014. The relationship between TGFβ, low oxygen and the outgrowth of extravillous trophoblasts from anchoring villi during the first trimester of pregnancy. *Cytokine* 68, 9–15. doi:10.1016/j.cyto.2014.03.001
- Prowse, A.B.J., Chong, F., Elliott, D.A., Elefanty, A.G., Stanley, E.G., Gray, P.P., Munro, T.P., Osborne, G.W., 2012. Analysis of mitochondrial function and localisation during human embryonic stem cell differentiation in vitro. *PloS One* 7, e52214. doi:10.1371/journal.pone.0052214
- Pruett, D., Waterman, E.H., Caughey, A.B., 2013. Fetal alcohol exposure: consequences, diagnosis, and treatment. *Obstet. Gynecol. Surv.* 68, 62–69. doi:10.1097/OGX.0b013e31827f238f
- Prutsch, N., Fock, V., Haslinger, P., Haider, S., Fiala, C., Pollheimer, J., Knöfler, M., 2012. The role of interleukin-1β in human trophoblast motility. *Placenta* 33, 696–703. doi:10.1016/j.placenta.2012.05.008
- Pucino, V., De Rosa, V., Procaccini, C., Matarese, G., 2014. Regulatory T cells, leptin and angiogenesis. *Chem. Immunol. Allergy* 99, 155–169. doi:10.1159/000353557
- Rahimi, Z., Rahimi, Z., Shahsavandi, M.O., Bidoki, K., Rezaei, M., 2013. MMP-9 (-1562 C:T) polymorphism as a biomarker of susceptibility to severe pre-eclampsia. *Biomark. Med.* 7, 93–98. doi:10.2217/bmm.12.95
- Rajakumar, A., Brandon, H.M., Daftary, A., Ness, R., Conrad, K.P., 2004. Evidence for the functional activity of hypoxia-inducible transcription factors overexpressed in preeclamptic placentae. *Placenta* 25, 763–769. doi:10.1016/j.placenta.2004.02.011

- Rajaraman, G., Murthi, P., Leo, B., Brennecke, S.P., Kalionis, B., 2007. Homeobox gene HLX1 is a regulator of colony stimulating factor-1 dependent trophoblast cell proliferation. *Placenta* 28, 991–998. doi:10.1016/j.placenta.2007.03.011
- Ramalho-Santos, J., Amaral, S., 2013. Mitochondria and mammalian reproduction. *Mol. Cell. Endocrinol.* 379, 74–84. doi:10.1016/j.mce.2013.06.005
- Ramhorst, R.E., Giribaldi, L., Fraccaroli, L., Toscano, M.A., Stupirski, J.C., Romero, M.D., Durand, E.S., Rubinstein, N., Blaschitz, A., Sedlmayr, P., Genti-Raimondi, S., Fainboim, L., Rabinovich, G.A., 2012. Galectin-1 confers immune privilege to human trophoblast: implications in recurrent fetal loss. *Glycobiology* 22, 1374–1386. doi:10.1093/glycob/cws104
- Rangwala, S.M., Wang, X., Calvo, J.A., Lindsley, L., Zhang, Y., Deyneko, G., Beaulieu, V., Gao, J., Turner, G., Markovits, J., 2010. Estrogen-related Receptor γ Is a Key Regulator of Muscle Mitochondrial Activity and Oxidative Capacity. *J. Biol. Chem.* 285, 22619–22629. doi:10.1074/jbc.M110.125401
- Rashid-Doubell, F., Tannetta, D., Redman, C.W.G., Sargent, I.L., Boyd, C. a. R., Linton, E.A., 2007. Caveolin-1 and lipid rafts in confluent BeWo trophoblasts: evidence for Rock-1 association with caveolin-1. *Placenta* 28, 139–151. doi:10.1016/j.placenta.2005.12.005
- Ray, J.G., Vermeulen, M.J., Schull, M.J., Redelmeier, D.A., 2005. Cardiovascular health after maternal placental syndromes (CHAMPS): population-based retrospective cohort study. *Lancet* 366, 1797–1803. doi:10.1016/S0140-6736(05)67726-4
- Ren, Y., Jiang, H., Ma, D., Nakaso, K., Feng, J., 2011. Parkin degrades estrogen-related receptors to limit the expression of monoamine oxidases. *Hum. Mol. Genet.* 20, 1074–1083. doi:10.1093/hmg/ddq550
- Rigourd, V., Chauvet, C., Chelbi, S.T., Rebouret, R., Mondon, F., Letourneur, F., Mignot, T.-M., Barbaux, S., Vaiman, D., 2008. STOX1 overexpression in choriocarcinoma cells mimics transcriptional alterations observed in preeclamptic placentas. *PloS One* 3, e3905. doi:10.1371/journal.pone.0003905
- Rodgers, J.T., Lerin, C., Gerhart-Hines, Z., Puigserver, P., 2008. Metabolic adaptations through the PGC-1 α and SIRT1 pathways. *FEBS Lett.* 582, 46–53. doi:10.1016/j.febslet.2007.11.034
- Ruebner, M., Langbein, M., Strissel, P.L., Henke, C., Schmidt, D., Goecke, T.W., Faschingbauer, F., Schild, R.L., Beckmann, M.W., Strick, R., 2012. Regulation of the human endogenous retroviral Syncytin-1 and cell-cell fusion by the nuclear hormone receptors PPAR γ /RXR α in placentogenesis. *J. Cell. Biochem.* 113, 2383–2396. doi:10.1002/jcb.24110
- Ryu, M.J., Kim, S.J., Choi, M.J., Kim, Y.K., Lee, M.H., Lee, S.E., Chung, H.K., Jung, S.B., Kim, H.-J., Kim, K.S., Jo, Y.S., Kweon, G.R., Lee, C.-H., Shong, M., 2013. Mitochondrial oxidative phosphorylation reserve is required for hormone- and PPAR γ agonist-induced adipogenesis. *Mol. Cells* 35, 134–141. doi:10.1007/s10059-012-2257-1
- Sadagopan, S., Sharma-Walia, N., Veettil, M.V., Bottero, V., Levine, R., Vart, R.J., Chandran, B., 2009. Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Upregulates Angiogenin during Infection of Human Dermal Microvascular Endothelial Cells, Which Induces 45S rRNA Synthesis, Antiapoptosis, Cell Proliferation, Migration, and Angiogenesis. *J. Virol.* 83, 3342–3364. doi:10.1128/JVI.02052-08

- Salamonsen, L.A., Dimitriadis, E., Jones, R.L., Nie, G., 2003. Complex regulation of decidualization: a role for cytokines and proteases--a review. *Placenta* 24 Suppl A, S76–85.
- Sanyal, S., Kim, J.-Y., Kim, H.-J., Takeda, J., Lee, Y.-K., Moore, D.D., Choi, H.-S., 2002. Differential regulation of the orphan nuclear receptor small heterodimer partner (SHP) gene promoter by orphan nuclear receptor ERR isoforms. *J. Biol. Chem.* 277, 1739–1748. doi:10.1074/jbc.M106140200
- Schindler, A.E., 2005. Endocrinology of pregnancy: Consequences for the diagnosis and treatment of pregnancy disorders. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, European Progestin Club Scientific Meeting: Progesterone and Progestins in Human Pregnancy and Breast Cancer 97, 386–388. doi:10.1016/j.jsbmb.2005.08.006
- Schreiber, S.N., Emter, R., Hock, M.B., Knutti, D., Cardenas, J., Podvinec, M., Oakeley, E.J., Kralli, A., 2004. The estrogen-related receptor α (ERR α) functions in PPAR γ coactivator 1 α (PGC-1 α)-induced mitochondrial biogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 6472–6477. doi:10.1073/pnas.0308686101
- Schulz, L.C., Townsend, K., Kunz, T.H., Widmaier, E.P., 2007. Inhibition of trophoblast invasiveness in vitro by immunoneutralization of leptin in the bat, *Myotis lucifugus* (Chiroptera). *Gen. Comp. Endocrinol.* 150, 59–65. doi:10.1016/j.ygcen.2006.07.007
- Schulz, L.C., Widmaier, E.P., 2004. The effect of leptin on mouse trophoblast cell invasion. *Biol. Reprod.* 71, 1963–1967. doi:10.1095/biolreprod.104.032722
- Shamshirsaz, A.A., Paidas, M., Krikun, G., 2011. Preeclampsia, Hypoxia, Thrombosis, and Inflammation. *J. Pregnancy* 2012, e374047. doi:10.1155/2012/374047
- Sheppard, B.L., Bonnar, J., 1980. Ultrastructural abnormalities of placental villi in placentae from pregnancies complicated by intrauterine fetal growth retardation: their relationship to decidual spiral arterial lesions. *Placenta* 1, 145–156.
- Shih, I.M., Kurman, R.J., 1996. Expression of melanoma cell adhesion molecule in intermediate trophoblast. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 75, 377–388.
- Shi, Q.J., Lei, Z.M., Rao, C.V., Lin, J., 1993. Novel role of human chorionic gonadotropin in differentiation of human cytotrophoblasts. *Endocrinology* 132, 1387–1395.
- Signorile, A., Micelli, L., De Rasmio, D., Santeramo, A., Papa, F., Ficarella, R., Gattoni, G., Scacco, S., Papa, S., 2014. Regulation of the biogenesis of OXPHOS complexes in cell transition from replicating to quiescent state: involvement of PKA and effect of hydroxytyrosol. *Biochim. Biophys. Acta* 1843, 675–684. doi:10.1016/j.bbamcr.2013.12.017
- Simon, P., Decoster, C., Brocas, H., Schwiers, J., Vassart, G., 1986. Absence of human chorionic somatomammotropin during pregnancy associated with two types of gene deletion. *Hum. Genet.* 74, 235–238.
- Sladek, R., Bader, J.A., Giguere, V., 1997. The orphan nuclear receptor estrogen-related receptor alpha is a transcriptional regulator of the human medium-chain acyl coenzyme A dehydrogenase gene. *Mol. Cell. Biol.* 17, 5400–5409.
- Sobrinho Crespo, C., Perianes Cachero, A., Puebla Jiménez, L., Barrios, V., Arilla Ferreiro, E., 2014. Peptides and food intake. *Diabetes* 5, 58. doi:10.3389/fendo.2014.00058
- Song, G., Wang, L., 2009. Nuclear Receptor SHP Activates miR-206 Expression via a Cascade Dual Inhibitory Mechanism. *PLoS ONE* 4. doi:10.1371/journal.pone.0006880
- Soriano, F.X., Liesa, M., Bach, D., Chan, D.C., Palacín, M., Zorzano, A., 2006. Evidence for a mitochondrial regulatory pathway defined by peroxisome proliferator-activated

- receptor-gamma coactivator-1 alpha, estrogen-related receptor-alpha, and mitofusin 2. *Diabetes* 55, 1783–1791. doi:10.2337/db05-0509
- Spinillo, A., Gardella, B., Bariselli, S., Alfei, A., Silini, E., Dal Bello, B., 2012. Placental histopathological correlates of umbilical artery Doppler velocimetry in pregnancies complicated by fetal growth restriction. *Prenat. Diagn.* 32, 1263–1272. doi:10.1002/pd.3988
- Staff, A.C., Dechend, R., Redman, C.W.G., 2013. Review: Preeclampsia, acute atherosclerosis of the spiral arteries and future cardiovascular disease: Two new hypotheses. *Placenta, Dissecting the Placenta: The Scientist's and Obstetrician's Points of View* 34, Supplement, S73–S78. doi:10.1016/j.placenta.2012.11.022
- Stark, M.W., Clark, L., Craver, R.D., 2014. Histologic Differences in Placentas of Preeclamptic/Eclamptic Gestations by Birthweight, Placental Weight, and Time of Onset. *Pediatr. Dev. Pathol.* 17, 181–189. doi:10.2350/13-09-1378-OA.1
- Stefanoska, I., Jovanović Krivokuća, M., Vasilijić, S., Čujić, D., Vićovac, L., 2013. Prolactin stimulates cell migration and invasion by human trophoblast in vitro. *Placenta* 34, 775–783. doi:10.1016/j.placenta.2013.06.305
- Steroid Endocrinology of Pregnancy, 2009. . *Glob. Libr. Womens Med.* doi:10.3843/GLOWM.10311
- Stewart, C.L., Kaspar, P., Brunet, L.J., Bhatt, H., Gadi, I., Köntgen, F., Abbondanzo, S.J., 1992. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor. *Nature* 359, 76–79. doi:10.1038/359076a0
- Straszewski-Chavez, S.L., Abrahams, V.M., Mor, G., 2005. The role of apoptosis in the regulation of trophoblast survival and differentiation during pregnancy. *Endocr. Rev.* 26, 877–897. doi:10.1210/er.2005-0003
- Suman, P., Gupta, S.K., 2014. STAT3 and ERK1/2 cross-talk in leukaemia inhibitory factor mediated trophoblastic JEG-3 cell invasion and expression of mucin 1 and Fos. *Am. J. Reprod. Immunol. N. Y. N* 1989 72, 65–74. doi:10.1111/aji.12248
- Suman, P., Shembekar, N., Gupta, S.K., 2013. Leukemia inhibitory factor increases the invasiveness of trophoblastic cells through integrated increase in the expression of adhesion molecules and pappalysin 1 with a concomitant decrease in the expression of tissue inhibitor of matrix metalloproteinases. *Fertil. Steril.* 99, 533–542. doi:10.1016/j.fertnstert.2012.10.004
- Sun, Y.-Y., Lu, M., Xi, X.-W., Qiao, Q.-Q., Chen, L.-L., Xu, X.-M., Feng, Y.-J., 2011. Regulation of epithelial-mesenchymal transition by homeobox gene DLX4 in JEG-3 trophoblast cells: a role in preeclampsia. *Reprod. Sci. Thousand Oaks Calif* 18, 1138–1145. doi:10.1177/1933719111408112
- Tache, V., Ciric, A., Moretto-Zita, M., Li, Y., Peng, J., Maltepe, E., Milstone, D.S., Parast, M.M., 2013. Hypoxia and trophoblast differentiation: a key role for PPAR γ . *Stem Cells Dev.* 22, 2815–2824. doi:10.1089/scd.2012.0596
- Takacs, M., Petoukhov, M.V., Atkinson, R.A., Roblin, P., Ogi, F.-X., Demeler, B., Potier, N., Chebaro, Y., Dejaegere, A., Svergun, D.I., Moras, D., Billas, I.M.L., 2013. The asymmetric binding of PGC-1 α to the ERR α and ERR γ nuclear receptor homodimers involves a similar recognition mechanism. *PloS One* 8, e67810. doi:10.1371/journal.pone.0067810
- Takayanagi, S., Tokunaga, T., Liu, X., Okada, H., Matsushima, A., Shimohigashi, Y., 2006. Endocrine disruptor bisphenol A strongly binds to human estrogen-related receptor γ

- (ERR γ) with high constitutive activity. *Toxicol. Lett.* 167, 95–105.
doi:10.1016/j.toxlet.2006.08.012
- Takeda, Y., Liu, X., Sumiyoshi, M., Matsushima, A., Shimohigashi, M., Shimohigashi, Y., 2009. Placenta expressing the greatest quantity of bisphenol A receptor ERR{ γ } among the human reproductive tissues: Predominant expression of type-1 ERR γ isoform. *J. Biochem. (Tokyo)* 146, 113–122. doi:10.1093/jb/mvp049
- Takubo, K., Nagamatsu, G., Kobayashi, C.I., Nakamura-Ishizu, A., Kobayashi, H., Ikeda, E., Goda, N., Rahimi, Y., Johnson, R.S., Soga, T., Hirao, A., Suematsu, M., Suda, T., 2013. Regulation of glycolysis by Pdk functions as a metabolic checkpoint for cell cycle quiescence in hematopoietic stem cells. *Cell Stem Cell* 12, 49–61.
doi:10.1016/j.stem.2012.10.011
- Tamemoto, H., Kadowaki, T., Tobe, K., Yagi, T., Sakura, H., Hayakawa, T., Terauchi, Y., Ueki, K., Kaburagi, Y., Satoh, S., 1994. Insulin resistance and growth retardation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *Nature* 372, 182–186. doi:10.1038/372182a0
- Tapia-Pizarro, A., Argandoña, F., Palomino, W.A., Devoto, L., 2013. Human chorionic gonadotropin (hCG) modulation of TIMP1 secretion by human endometrial stromal cells facilitates extravillous trophoblast invasion in vitro. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* doi:10.1093/humrep/det136
- Tarrade, A., Schoonjans, K., Guibourdenche, J., Bidart, J.M., Vidaud, M., Auwerx, J., Rochette-Egly, C., Evain-Brion, D., 2001a. PPAR γ /RXR α Heterodimers Are Involved in Human CG β Synthesis and Human Trophoblast Differentiation. *Endocrinology* 142, 4504–4514. doi:10.1210/endo.142.10.8448
- Tarrade, A., Schoonjans, K., Pavan, L., Auwerx, J., Rochette-Egly, C., Evain-Brion, D., Fournier, T., 2001b. PPAR γ /RXR α Heterodimers Control Human Trophoblast Invasion. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86, 5017–5024. doi:10.1210/jcem.86.10.7924
- Tennessen, J.M., Baker, K.D., Lam, G., Evans, J., Thummel, C.S., 2011. The *Drosophila* estrogen-related receptor directs a metabolic switch that supports developmental growth. *Cell Metab.* 13, 139–148. doi:10.1016/j.cmet.2011.01.005
- Thame, M., Osmond, C., Bennett, F., Wilks, R., Forrester, T., 2004. Fetal growth is directly related to maternal anthropometry and placental volume. *Eur. J. Clin. Nutr.* 58, 894–900. doi:10.1038/sj.ejcn.1601909
- Tohmé, M., Prud'homme, S.M., Boulahtouf, A., Samarut, E., Brunet, F., Bernard, L., Bourguet, W., Gibert, Y., Balaguer, P., Laudet, V., 2014. Estrogen-related receptor γ is an in vivo receptor of bisphenol A. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* doi:10.1096/fj.13-240465
- Tontonoz, P., Hu, E., Spiegelman, B.M., 1994. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR γ 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell* 79, 1147–1156.
- Torbergson, T., Oian, P., Mathiesen, E., Borud, O., 1989. Pre-eclampsia--a mitochondrial disease? *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 68, 145–148.
- Townley-Tilson, W.H.D., Wu, Y., Ferguson, J.E., Patterson, C., 2014. The ubiquitin ligase ASB4 promotes trophoblast differentiation through the degradation of ID2. *PLoS One* 9, e89451. doi:10.1371/journal.pone.0089451
- Tremblay, A.M., Wilson, B.J., Yang, X.-J., Giguère, V., 2008. Phosphorylation-dependent sumoylation regulates estrogen-related receptor- α and - γ transcriptional activity through a synergy control motif. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 22, 570–584. doi:10.1210/me.2007-0357

- Tremblay, G.B., Bergeron, D., Giguere, V., 2001a. 4-Hydroxytamoxifen is an isoform-specific inhibitor of orphan estrogen-receptor-related (ERR) nuclear receptors beta and gamma. *Endocrinology* 142, 4572–4575.
- Tremblay, G.B., Kunath, T., Bergeron, D., Lapointe, L., Champigny, C., Bader, J.A., Rossant, J., Giguère, V., 2001b. Diethylstilbestrol regulates trophoblast stem cell differentiation as a ligand of orphan nuclear receptor ERR beta. *Genes Dev.* 15, 833–838. doi:10.1101/gad.873401
- Tsatsaris, V., Fournier, T., Winer, N., 2010. [Pathophysiology of preeclampsia]. *Ann. Fr. Anesthésie Réanimation* 29, e13–18. doi:10.1016/j.annfar.2010.02.011
- Tuuli, M.G., Longtine, M.S., Nelson, D.M., 2011. Review: Oxygen and trophoblast biology--a source of controversy. *Placenta* 32 Suppl 2, S109–118. doi:10.1016/j.placenta.2010.12.013
- Van Dijk, M., Mulders, J., Poutsma, A., Könst, A.A.M., Lachmeijer, A.M.A., Dekker, G.A., Blankenstein, M.A., Oudejans, C.B.M., 2005. Maternal segregation of the Dutch preeclampsia locus at 10q22 with a new member of the winged helix gene family. *Nat. Genet.* 37, 514–519. doi:10.1038/ng1541
- Veerbeek, J.H.W., Nikkels, P.G.J., Torrance, H.L., Gravesteijn, J., Post Uiterweer, E.D., Derks, J.B., Koenen, S.V., Visser, G.H.A., Van Rijn, B.B., Franx, A., 2014. Placental pathology in early intrauterine growth restriction associated with maternal hypertension. *Placenta* 35, 696–701. doi:10.1016/j.placenta.2014.06.375
- Velicky, P., Haider, S., Otti, G.R., Fiala, C., Pollheimer, J., Knöfler, M., 2014. Notch-dependent RBPJk inhibits proliferation of human cytotrophoblasts and their differentiation into extravillous trophoblasts. *Mol. Hum. Reprod.* 20, 756–766. doi:10.1093/molehr/gau038
- Venkatesha, S., Toporsian, M., Lam, C., Hanai, J., Mammoto, T., Kim, Y.M., Bdolah, Y., Lim, K.-H., Yuan, H.-T., Libermann, T.A., Stillman, I.E., Roberts, D., D'Amore, P.A., Epstein, F.H., Sellke, F.W., Romero, R., Sukhatme, V.P., Letarte, M., Karumanchi, S.A., 2006. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat. Med.* 12, 642–649. doi:10.1038/nm1429
- Voccoli, V., Colombaioni, L., 2009. Mitochondrial remodeling in differentiating neuroblasts. *Brain Res.* 1252, 15–29. doi:10.1016/j.brainres.2008.11.026
- Wagatsuma, A., Sakuma, K., 2013. Mitochondria as a potential regulator of myogenesis. *ScientificWorldJournal* 2013, 593267. doi:10.1155/2013/593267
- Wakefield, S.L., Lane, M., Mitchell, M., 2011. Impaired Mitochondrial Function in the Preimplantation Embryo Perturbs Fetal and Placental Development in the Mouse. *Biol. Reprod.* 84, 572–580. doi:10.1095/biolreprod.110.087262
- Wang, H., Cheng, H., Shao, Q., Dong, Z., Xie, Q., Zhao, L., Wang, Q., Kong, B., Qu, X., 2014. Leptin-promoted human extravillous trophoblast invasion is MMP14 dependent and requires the cross talk between Notch1 and PI3K/Akt signaling. *Biol. Reprod.* 90, 78. doi:10.1095/biolreprod.113.114876
- Wang, L., Mascher, H., Psilander, N., Blomstrand, E., Sahlin, K., 2011. Resistance exercise enhances the molecular signaling of mitochondrial biogenesis induced by endurance exercise in human skeletal muscle. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 111, 1335–1344. doi:10.1152/jappphysiol.00086.2011
- Wang, S.-C.M., Myers, S., Dooms, C., Capon, R., Muscat, G.E.O., 2010. An ERR β/γ agonist modulates GR α expression, and glucocorticoid responsive gene expression in skeletal muscle cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* 315, 146–152. doi:10.1016/j.mce.2009.07.012

- Wan, X., 2013. miR-205 promotes tumor proliferation and invasion through targeting ESRRG in endometrial carcinoma. *Oncol. Rep.* doi:10.3892/or.2013.2400
- Wawrzycka, B., Zarebska, A., Łańcut, M., Wawrzycki, B., Czerny, K., 2001. Ultrastructural changes in the syncytiotrophoblast in some types of pathological pregnancy. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska Sect. Med.* 56, 143–149.
- Weedon-Fekjær, M.S., Taskén, K., 2012. Review: Spatiotemporal dynamics of hCG/cAMP signaling and regulation of placental function. *Placenta* 33, Supplement, S87–S91. doi:10.1016/j.placenta.2011.11.003
- Wee, N.K.Y., Baldock, P.A., 2014. The hunger games of skeletal metabolism. *BoneKEy Rep.* 3, 588. doi:10.1038/bonekey.2014.83
- Winterhager, E., Kaufmann, P., Gruemmer, R., 2000. Cell-cell-communication during placental development and possible implications for trophoblast proliferation and differentiation. *Placenta* 21 Suppl A, S61–68.
- Wu, F., Wang, J., Wang, Y., Kwok, T.-T., Kong, S.-K., Wong, C., 2009. Estrogen-related receptor alpha (ERRalpha) inverse agonist XCT-790 induces cell death in chemotherapeutic resistant cancer cells. *Chem. Biol. Interact.* 181, 236–242. doi:10.1016/j.cbi.2009.05.008
- Wu, W., Zhao, S., 2013. Metabolic changes in cancer: beyond the Warburg effect. *Acta Biochim. Biophys. Sin.* 45, 18–26. doi:10.1093/abbs/gms104
- Wu, Y.-H., Lo, H.-F., Chen, S.-H., Chen, H., 2013. Caspase-14 suppresses GCM1 acetylation and inhibits placental cell differentiation. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 27, 2818–2828. doi:10.1096/fj.12-224279
- Wu, Z., Puigserver, P., Andersson, U., Zhang, C., Adelmant, G., Mootha, V., Troy, A., Cinti, S., Lowell, B., Scarpulla, R.C., Spiegelman, B.M., 1999. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell* 98, 115–124. doi:10.1016/S0092-8674(00)80611-X
- Xie, Y.-B., Park, J.-H., Kim, D.-K., Hwang, J.H., Oh, S., Park, S.B., Shong, M., Lee, I.-K., Choi, H.-S., 2009. Transcriptional corepressor SMILE recruits SIRT1 to inhibit nuclear receptor estrogen receptor-related receptor gamma transactivation. *J. Biol. Chem.* 284, 28762–28774. doi:10.1074/jbc.M109.034165
- Yagel, S., Lala, P.K., Powell, W.A., Casper, R.F., 1989. Interleukin-1 stimulates human chorionic gonadotropin secretion by first trimester human trophoblast. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 68, 992–995. doi:10.1210/jcem-68-5-992
- Yamamoto, E., Ito, T., Abe, A., Sido, F., Ino, K., Itakura, A., Mizutani, S., Dovat, S., Nomura, S., Kikkawa, F., 2005. Ikaros is expressed in human extravillous trophoblasts and involved in their migration and invasion. *Mol. Hum. Reprod.* 11, 825–831. doi:10.1093/molehr/gah239
- Yang, X., Downes, M., Yu, R.T., Bookout, A.L., He, W., Straume, M., Mangelsdorf, D.J., Evans, R.M., 2006. Nuclear Receptor Expression Links the Circadian Clock to Metabolism. *Cell* 126, 801–810. doi:10.1016/j.cell.2006.06.050
- Yang, Z., Zhao, Y., Bennett, M.J., Strauss, A.W., Ibdah, J.A., 2002. Fetal genotypes and pregnancy outcomes in 35 families with mitochondrial trifunctional protein mutations. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 187, 715–720. doi:10.1067/mob.2002.125893
- Yasumoto, H., Meng, L., Lin, T., Zhu, Q., Tsai, R.Y.L., 2007. GNL3L inhibits activity of estrogen-related receptor gamma by competing for coactivator binding. *J. Cell Sci.* 120, 2532–2543. doi:10.1242/jcs.009878

- Young, B.C., Levine, R.J., Karumanchi, S.A., 2010. Pathogenesis of preeclampsia. *Annu. Rev. Pathol.* 5, 173–192. doi:10.1146/annurev-pathol-121808-102149
- Yudate, T., Isaka, K., Kosugi, Y., Koshiishi, M., Shiraishi, K., Hosaka, M., Takayama, M., 1996. [Analysis of the mechanism of trophoblast infiltration]. *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 48, 191–198.
- Yu, D.D., Forman, B.M., 2005. Identification of an agonist ligand for estrogen-related receptors $ERR\beta/\gamma$. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15, 1311–1313. doi:10.1016/j.bmcl.2005.01.025
- Zárate, A., Saucedo, R., Valencia, J., Manuel, L., Hernández, M., 2014. Early Disturbed Placental Ischemia and Hypoxia Creates Immune Alteration and Vascular Disorder Causing Preeclampsia. *Arch. Med. Res.* doi:10.1016/j.arcmed.2014.10.003
- Zhao, H., Jiang, Y., Cao, Q., Hou, Y., Wang, C., 2012. Role of integrin switch and transforming growth factor Beta 3 in hypoxia-induced invasion inhibition of human extravillous trophoblast cells. *Biol. Reprod.* 87, 47. doi:10.1095/biolreprod.112.099937
- Zhou, Y., Damsky, C.H., Chiu, K., Roberts, J.M., Fisher, S.J., 1993. Preeclampsia is associated with abnormal expression of adhesion molecules by invasive cytotrophoblasts. *J. Clin. Invest.* 91, 950–960. doi:10.1172/JCI116316
- Zhou, Y., Fisher, S.J., Janatpour, M., Genbacev, O., Dejana, E., Wheelock, M., Damsky, C.H., 1997. Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion? *J. Clin. Invest.* 99, 2139–2151.
- Zuercher, W.J., Gaillard, S., Orband-Miller, L.A., Chao, E.Y.H., Shearer, B.G., Jones, D.G., Miller, A.B., Collins, J.L., McDonnell, D.P., Willson, T.M., 2005. Identification and Structure–Activity Relationship of Phenolic Acyl Hydrazones as Selective Agonists for the Estrogen-Related Orphan Nuclear Receptors $ERR\beta$ and $ERR\gamma$. *J. Med. Chem.* 48, 3107–3109. doi:10.1021/jm050161j

Résumé

Le placenta humain est un organe indispensable au maintien de la grossesse et au développement fœtal. Son unité structurale et fonctionnelle est la villosité choriale, constituée principalement de cytotrophoblastes qui se différencient selon la voie villeuse endocrine ou extravilleuse invasive. Le développement intense du placenta et ses fonctions multiples requièrent des besoins en énergie importants. La régulation du métabolisme énergétique placentaire passe, en partie, par le contrôle de l'activité mitochondriale.

La mitochondrie est l'organelle clé du métabolisme énergétique. Cependant, elle intervient dans de nombreuses autres fonctions cellulaires telles que l'apoptose et la biosynthèse des hormones stéroïdes. Des études récentes suggèrent que les mitochondries sont impliquées dans la différenciation cellulaire.

Le récepteur apparenté aux récepteurs des oestrogènes- γ , (ERR γ), est un facteur de transcription qui joue un rôle crucial dans le contrôle du métabolisme énergétique. Des travaux préliminaires ont montré qu'ERR γ est fortement exprimé dans le placenta humain.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'implication d'ERR γ dans le développement placentaire.

Dans une première partie, nous avons caractérisé l'expression d'ERR γ dans les trophoblastes de placentas humains de 1^{er} et de 3^{ème} trimestre. Nous avons montré que l'expression d'ERR γ i) augmente au cours de la grossesse et ii) est plus importante dans les cytotrophoblastes villex en comparaison aux cytotrophoblastes extra-villex.

Dans une seconde partie, nous avons montré que la différenciation des cytotrophoblastes villex est associée à des modifications du métabolisme énergétique et du contenu mitochondrial. De plus, nous avons clairement démontré qu'ERR γ contrôle positivement la différenciation des trophoblastes villex en modulant les fonctions mitochondriales.

Enfin, nous avons montré qu'ERR γ est moins exprimé dans les placentas issus de retards de croissance intra-utérins en comparaison à des placentas normaux. De plus, la diminution d'ERR γ est associée à une baisse du contenu mitochondrial placentaire.

L'ensemble de ce travail a permis de mettre en évidence le rôle clé d'ERR γ et des mitochondries dans le développement du placenta humain.

Abstract

Human placenta is a vital organ for pregnancy support and fetal development. The chorionic villi is the structural and functional unit of the placenta and is mainly constituted by trophoblastic cells. The trophoblast differentiate in villous endocrine and extra-villous invasive trophoblast. Placental development and its numerous functions require the availability of high energy. Placental energetic metabolism control is partially mediated by the regulation of mitochondrial activity.

Mitochondria are key organelles of the energetic metabolism. However, mitochondria are involved in numerous other cellular functions such as apoptosis and steroid hormone biosynthesis. Moreover, recent studies suggest that mitochondria are involved in cell differentiation.

Estrogen related receptor- γ (ERR γ) is a transcriptional factor implicated in the control of energetic metabolism. Preliminary studies showed that ERR γ is highly expressed in human placenta.

In this work, we decided to study ERR γ implication in human placental development.

In a first part, we characterized ERR γ expression in trophoblast from first and third trimester human placentas. We showed that ERR γ expression i) increased during pregnancy and ii) was higher in villous than extra-villous trophoblasts.

In a second part, we showed that villous trophoblast differentiation was associated with modifications of energetic metabolism and mitochondrial content. Moreover, we clearly demonstrated that ERR γ positively controled villous differentiation by the modulation of mitochondrial functions.

In a last part, we showed that ERR γ was less expressed in placentas from intra-uterine growth restriction as compared to non-pathological placentas. Moreover, this down-regulation was associated with a decrease of mitochondrial content.

This work thus showed, for the first time, that ERR γ and mitochondria played a key role in placental development.